

WO 2004/022553 A1

Beschreibung

Indol- oder Benzimidazolderivate zur Modulation der I κ B-Kinase

- 5 Die Erfindung betrifft Indol- oder Benzimidazolderivate, die I κ B-Kinase inhibieren, Verfahren zu ihrer Herstellung und Verwendung derselben als Arzneimittel.

In der Patentanmeldung WO 94/12478 werden unter anderen Indolderivate beschrieben, welche die Blutplättchen-Aggregation inhibieren. In den Patentanmeldungen WO 01/00610
10 und WO 01/30774 werden Indol- und Benzimidazolderivate beschrieben, die NF κ B modulieren können.

NF κ B ist ein heterodimerer Transkriptionsfaktor, der eine Vielzahl von Gene aktivieren kann, die unter anderen für proinflammatorische Cytokine wie IL-1, IL-2, TNF α oder IL-6 kodieren. NF κ B liegt im Cytosol von Zellen komplexiert mit seinem natürlich vorkommenden Inhibitor
15 I κ B vor. Die Stimulation von Zellen, beispielsweise durch Cytokine, führt zur Phosphorylierung und anschließenden proteolytischen Abbau von I κ B. Dieser proteolytische Abbau führt zur Aktivierung von NF κ B, das anschließend in den Kern der Zelle wandert und dort eine Vielzahl von proinflammatorischen Genen aktiviert.

In Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis (bei der Entzündung), Osteoarthritis, Asthma,
20 Herzinfarkt, Alzheimer Erkrankungen, Diabetes Typ II, „inflammatory bowel disease“ oder Arteriosklerose ist NF κ B über das normale Maß hinaus aktiviert. Die Hemmung von NF κ B ist auch in der Krebstherapie von Nutzen, da sie dort alleine oder zur Verstärkung der Cytostatika Therapie eingesetzt wird. Es konnte gezeigt werden, dass Arzneimittel wie Glucocorticoide, Salicylate oder Goldsalze, die in der Rheumatherapie eingesetzt werden, an verschiedenen
25 Stellen in die NF κ B aktivierende Signalkette inhibierend eingreifen oder direkt mit der Transkription der Gene interferieren.

Der erste Schritt in der genannten Signalkaskade ist der Abbau von I κ B. Diese Phosphorylierung wird durch die spezifische I κ B-Kinase reguliert. Bisher sind keine Inhibitoren bekannt, die spezifisch I κ B-Kinase inhibieren.

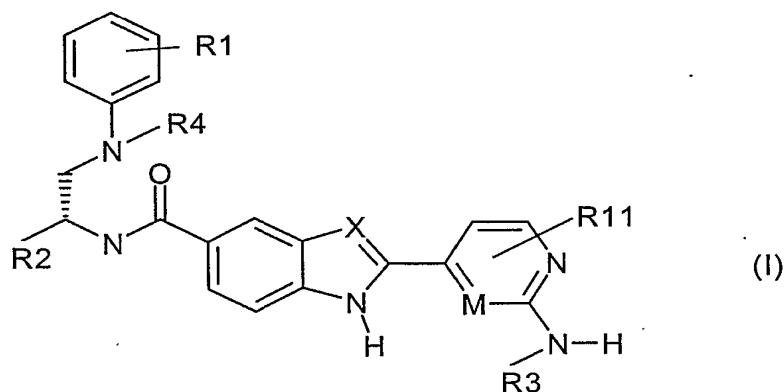
Nachteil der bekannten Inhibitoren von I κ B-Kinase ist häufig die mangelnde Spezifität der Hemmung für nur eine Klasse von Kinasen. Beispielsweise hemmen die meisten Inhibitoren von I κ B-Kinase mehrere verschiedene Kinasen gleichzeitig, weil die katalytischen Domänen dieser Kinasen ähnliche Strukturen aufweisen. Demzufolge wirken die Inhibitoren in
5 unerwünschter Weise auf viele Enzyme, auch solche mit vitaler Funktion ein.

In der Patentanmeldung WO 01/30774 wurden bereits Indolderivate beschrieben, die NF κ B modulieren können und eine starke inhibitorische Wirkung auf I κ B-Kinase aufweisen. Die in WO 01/30774 offenbarten Verbindungen, die in den Beispielen beschrieben werden, zeigen
10 aber auch eine starke hemmende Wirkung auf andere Kinasen wie cAMP-abhängige Proteinkinase, Proteinkinase C oder Caseinkinase II. Einige dieser Indolderivate zeigen bei einer Verbesserung der Spezifität jedoch die Verringerung der Inhibition von I κ B-Kinase. Ferner ist der erzielbare Blutplasmaspiegel mit den in WO 01/30774 offenbarten Verbindungen nicht ausreichend für eine orale Applikation dieser Derivate.

15

In dem Bestreben wirksame Verbindungen zur Behandlung von rheumatoider Arthritis (bei der Entzündung), Osteoarthritis, Asthma, Herzinfarkt, Alzheimer Erkrankungen, Krebserkrankungen (Potenzierung von Cytotoxica-Therapien) oder Arteriosklerose zu erhalten, wurde nun gefunden, dass die erfindungsgemäßen Indol- und Benzimidazolderivate die
20 obengenannten Nachteile nicht aufweisen. Die erfindungsgemäßen Indol- und Benzimidazolderivate sind starke Inhibitoren der I κ B-Kinase, hemmen dabei sehr selektiv Kinasen und weisen einen hohen Blutplasmaspiegel nach oraler Gabe auf.

Die Erfindung betrifft daher die Verbindung der Formel I



und/oder eine stereoisomere Form der Verbindung der Formel I und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

X und M gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für N-Atom oder CH stehen,

5

R1 und R11 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. F, Cl, J oder Br,
3. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 10 4. $-CN$,
5. $-CF_3$,
6. $-OR^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
7. $-N(R^5)-R^6$, worin R^5 und R^6 unabhängig voneinander für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl stehen,
- 15 8. $-C(O)-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht, oder
9. $-S(O)_x-R^5$, worin x die ganze Zahl Null, 1 oder 2 bedeutet und R^5 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet, stehen,

R2 für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe 3-Hydroxypyrro-2,4-dion, Imidazol, Imidazolidin, Imidazolin, Indazol, Isothiazol, Isothiazolidin, Isoxazol, 2-Isoxazolidin, Isoxazolidin, Isoxazolon, Morpholin, Oxazol, 1,3,4-Oxadiazol, Oxadiazolidindion, Oxadiazolon, 1,2,3,5-Oxathiadiazol-2-oxid, 5-Oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol, 5-Oxo-1,2,4-thiadiazol, Piperazin, Pyrazin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridazin, Pyrimidin, Tetrazol, Thiadiazol, Thiazol, Thiomorpholin, Triazol oder Triazolon, steht, und

25

der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch

- 1.1 $-C(O)-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
- 1.2 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 30 1.3 $-O-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,

1.4 -N(R⁵)-R⁶, worin R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl stehen,

1.5 Halogen oder

1.6 Keto-Rest,

- 5 2. -C(O)-R⁵, worin R⁵ für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl steht,
3. -C(O)-OR⁵, worin R⁵ für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl steht, oder
4. -C(O)-N(R⁷)-R⁸, worin R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander für Wasserstoffatom, -(C₁-C₄)-Alkyl-OH, -O-(C₁-C₄)-Alkyl oder -(C₁-C₄)-Alkyl stehen,

10 R₃ für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl steht,

R₄ für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol, Tetrazol, 1,2,3,5-Oxathiadiazol-2-Oxide, Triazolone, Oxadiazolon, Isoxazolone, Oxadiazolidindion, Triazol, 3-Hydroxypyrrro-2,4-dione, 5-Oxo-1,2,4-Thiadiazole, Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Indol, Isoindol, Indazol, Phthalazin, Chinolin, Isochinolin, Chinoxalin, Chinazolin, Cinnolin, β -Carbolin und benz-anellierte, cyclopenta-, oder cyclohexa- Derivate dieser Heteroarylreste,

15 wobei der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch -(C₁-C₅)-Alkyl, -(C₁-C₅)-Alkoxy, Halogen, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl, Methylendioxy, Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder -(C₁-C₄)-Alkoxycarbonyl, oder

20 2. einen Arylrest aus der Gruppe Phenyl, Naphthyl, 1-Naphthyl, 2-Naphthyl, Biphenyl, 2-Biphenyl, 3-Biphenyl und 4-Biphenyl, Anthryl oder Fluorenyl steht, und

25 der Arylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch -(C₁-C₅)-Alkyl, -(C₁-C₅)-Alkoxy, Halogen, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl, Methylendioxy,

Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkoxycarbonyl.

Die Erfindung betrifft ferner Verbindungen der Formel I, wobei

5 X und M gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für N-Atom oder CH stehen, R₁ und R₁₁ wie oben unter 1. bis 9. definiert sind,

R₂ für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe Imidazol, Isothiazol, Isoxazol, 2-Isoxazolidin, Isoxazolidin, Isoxazolon, 1,3,4-Oxadiazol, Oxadiazolidindion, 1,2,3,5-Oxadiazolon, Oxazol, 5-Oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol, Tetrazol, Thiadiazol, Thiazol,

10 Triazol oder Triazon steht, und der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch

1.1 Keto-Rest,

1.2 Halogen oder

1.3 $-(C_1-C_2)$ -Alkyl, oder

15 2. $-C(O)-N(R^7)-R^8$, worin R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander für Wasserstoffatom, $-(C_1-C_4)$ -Alkyl-OH, $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl stehen,

R₃ für Wasserstoffatom, Methyl oder Ethyl steht,

20 R₄ für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe der ungesättigten, teilweise gesättigten oder vollständig gesättigte Ringe steht, die sich von Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Pyridazin, Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Triazol oder Isothiazol ableiten,

wobei der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach
25 unabhängig voneinander substituiert ist durch $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-(C_1-C_4)$ -Alkoxy, F, Cl, J, Br, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy- $-(C_1-C_4)$ -alkyl, Methylendioxy, Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkoxycarbonyl, oder

2. Phenyl steht, und Phenyl unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach
30 unabhängig voneinander substituiert ist durch F, Cl, J, Br, CF₃, -OH, $-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkoxy.

Die Erfindung betrifft ferner die Verbindung

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamino-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-1-(5-oxo-4,5-dihydro-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,

2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,

10 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-1-(4H-[1,2,4]triazol-3-yl)-ethyl]-amid,

(S)-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-carbamoyl-2-(phenyl-thiazol-2-yl-amino)-ethyl]-amid,

(S)-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-methoxycarbamoyl-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,

2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,

20 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-(2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-2-(phenyl-pyrimidin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,

(S)-2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonyl]-amino]-3-[phenyl-(4-trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-propionsäure,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-ethyl}-amid,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-carbonsäure-((S)-1-carbamoyl-2-di-phenylamino-ethyl)-amid,

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amid oder

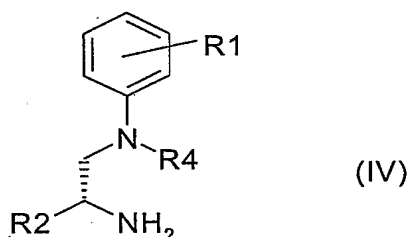
30 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid.

Unter dem Begriff "Halogen" wird Fluor, Chlor, Brom oder Jod verstanden. Unter dem Begriff "-(C₁-C₅)-Alkyl" oder „-(C₁-C₅)-Alkoxy“ werden Kohlenwasserstoffreste verstanden, deren Kohlenstoffkette geradkettig oder verzweigt ist und 1 bis 5 Kohlenstoffatome enthält wie Methyl, Ethyl, Propyl, n-Butyl, Pentyl oder Tertiär-Butyl. Unter dem Begriff „Heteroarylrest aus der Gruppe der ungesättigten, teilweise gesättigten oder vollständig gesättigte Ringe, die sich von Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Pyridazin, Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol ableiten“ werden beispielsweise Verbindungen verstanden wie Piperazin, Pyrazolin, Imidazolin, Pyrazolidin, Imidazolidin, Tetrahydropyridin, Isoxazolin, Isoxazolidin, Morpholin, Isothiazolin, Isothiazolidin, Tetrahydro-1,4-thiazin oder Piperidin.

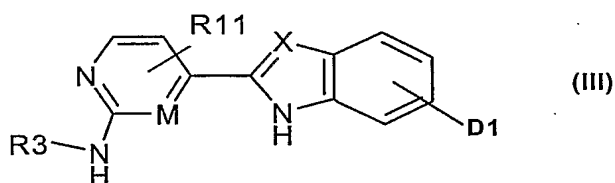
Die Herstellung der Verbindungen der Formel I erfolgt beispielsweise wie es in den Patentanmeldungen WO 01/00610 und WO.01/30774 beschrieben wurde. Die Ausgangsstoffe der chemischen Umsetzungen sind bekannt oder lassen sich nach literaturbekannten Methoden leicht herstellen.

Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel I und/oder einer stereoisomeren Form der Verbindung der Formel I und/oder eines physiologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel I, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man

20 a) eine Verbindung der Formel IV,



worin R1, R2 und R4 wie in Formel I definiert sind, mit einem Säurechlorid oder einem aktivierten Ester der Verbindung der Formel III,



wobei D1 –COOH bedeutet und R11, X, M und R3 wie in Formel I definiert sind, in Gegenwart einer Base oder gegebenenfalls eines wasserentziehenden Mittels in Lösung umgesetzt und in eine Verbindung der Formel I überführt,

- b) eine nach Verfahren a) hergestellte Verbindung der Formel I, die aufgrund ihrer chemischen Struktur in enantiomeren Formen auftritt, durch Salzbildung mit enantiomerenreinen Säuren oder Basen, Chromatographie an chiralen Stationärphasen oder Derivatisierung mittels chiraler enantiomerenreinen Verbindungen wie Aminosäuren, Trennung der somit erhaltenen Diastereomeren, und Abspaltung der chiralen Hilfsgruppen in die reinen Enantiomeren auftrennt, oder
- 10 c) die nach den Verfahren a) oder b) hergestellte Verbindung der Formel I entweder in freier Form isoliert oder im Falle des Vorliegens von sauren oder basischen Gruppen in physiologisch verträgliche Salze umwandelt.

Die Darstellung der Indol- oder Benzimidazolcarbonsäure-Derivate erfolgt nach einer Methode wie sie in Houben-Weyl "Methoden der Org. Chemie", Band E6-2A bzw. E6-2B beschrieben ist. So lassen sich zur Darstellung der Indol- oder Benzimidazolcarbonsäure-Derivate der Formel III bevorzugt Hydrazinobenzoessäuren und Aryl- oder Heteroarylketone, in Gegenwart von Polyphosphorsäure als Lösungsmittel bei 145 °C umsetzen. Die Darstellung der benötigten Hydrazinobenzoessäuren erfolgt nach dem Fachmann geläufigen Methoden z.B. aus den entsprechenden Benzoessäure-anilinen, Aryl- oder Heteroarylketone werden ebenfalls nach dem Fachmann gängigen Methoden z.B. aus den entsprechenden Säurechloriden oder Nitrilen durch Umsetzung mit z.B. Organometall-Verbindungen hergestellt.

Zur Kondensation der Verbindungen der Formel IV mit denen der Formel III verwendet man vorteilhafterweise die dem Fachmann an sich wohlbekannten Kupplungsmethoden der Peptidchemie (siehe z.B. Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Band 15/1 und 15/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974). Als Kondensationsmittel oder Kupplungsreagenzien kommen Verbindungen wie Carbonyldiimidazol, Carbodiimid wie Dicyclohexylcarbodiimid oder Diisopropylcarbodiimid (DIC), das O-((Cyano(ethoxy-carbonyl)-methylen)amino)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TOTU) oder Propylphosphonsäureanhydrid (PPA) in Frage.

- Die Kondensationen können unter Standardbedingungen durchgeführt werden. Bei der Kondensation ist es in der Regel nötig, dass die vorhandenen, nicht reagierenden Aminogruppen durch reversible Schutzgruppen geschützt werden. Gleiches gilt für nicht an der Reaktion beteiligte Carboxylgruppen, die während der Kondensation bevorzugt als $-(C_1-C_6)-$ Alkylester, Benzylester oder tert.-Butylester vorliegen. Ein Aminogruppen-Schutz erübrigt sich, wenn die Aminogruppen noch in Form von Vorstufen wie Nitrogruppen oder Cyanogruppen vorliegen und erst nach der Kondensation durch Hydrierung gebildet werden. Nach der Kondensation werden die vorhandenen Schutzgruppen in geeigneter Weise abgespalten. Beispielsweise können NO_2 -Gruppen (Guanidinoschutz in Aminosäuren),
- 10 Benzyloxycarbonylgruppen und-Benzylgruppen in Benzylestern abhydriert werden. Die Schutzgruppen vom tert.-Butyltyp werden sauer abgespalten, während der 9-Fluorenylmethyloxycarbonylrest durch sekundäre Amine entfernt wird.

- Die Erfindung betrifft auch Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt an
- 15 mindestens einer Verbindung der Formel I und/oder eines physiologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel I und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I, zusammen mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Trägerstoff, Zusatzstoff und/oder anderen Wirk- und Hilfsstoffen.
- 20 Aufgrund der pharmakologischen Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen zur Prophylaxe und Therapie all solcher Erkrankungen, an deren Verlauf eine verstärkte Aktivität von $I\kappa B$ -Kinase beteiligt ist. Dazu gehören beispielsweise chronische Erkrankungen des Bewegungsapparates wie entzündliche, immunologisch oder stoffwechselbedingte akute und chronische Arthritiden, Arthropathien, rheumatoide Arthritis,
- 25 oder degenerative Gelenkerkrankungen wie Osteoarthrosen, Spondylosen, Diabetes Typ II, „inflammatory bowel disease“, Knorpelschwund nach Gelenktrauma oder längerer Gelenksruhigstellung nach Meniskus- oder Patellaverletzungen oder Bänderrissen oder Erkrankungen des Bindegewebes wie Kollagenosen und Periodontalerkrankungen, Myalgien und Störungen des Knochenstoffwechsels, oder Erkrankungen, die durch eine Überexpression
- 30 von Tumor Nekrose Faktor alpha ($TNF\alpha$) oder erhöhte Konzentration an $TNF\alpha$ bedingt sind wie Kachexie, Multiple Sklerose, Schädel-Hirn Trauma, Morbus Crohn und Darmgeschwüre, oder Erkrankungen wie Arteriosklerose, Stenosen, Ulceration, Alzheimers Erkrankungen,

Muskelabbau, Krebserkrankungen (Potenzierung von Cytotoxica-Therapien), Herzinfarkt, Gicht, Sepsis, septischer Schock, endotoxischer Schock, virale Infektionen wie Grippe, Hepatitis, HIV-Infektionen, AIDS, oder durch Adenoviren oder Herpesviren verursachte Erkrankungen, parasitische Infektionen wie Malaria oder Lepra, Pilz- oder Hefeinfektionen,

- 5 Gehirnhautentzündungen, chronische entzündliche Lungenerkrankungen wie chronische Bronchitis oder Asthma, acute respiratory distress syndrome, akute Synovitis, Tuberkulose, Psoriasis, Diabetes, Behandlung von akuten oder chronischen Abstoßungsreaktionen des Organempfängers gegen das verpflanzte Organ, chronische Graft-versus-Host-Erkrankungen und entzündliche Gefäßerkrankungen. Die genannten Erkrankungen können mit den
- 10 erfindungsgemäß eingesetzten Verbindungen wesentlich spezifischer und mit einem kleineren Nebenwirkungsspektrum behandelt werden, weil im wesentlichen nur $\text{I}\kappa\text{B}$ -Kinase gehemmt wird.

Die Applikation der erfindungsgemäßen Arzneimittel kann durch orale, inhalative, rektale

15 oder transdermale Applikation oder durch subkutane, intraartikuläre, intraperitoneale oder intravenöse Injektion erfolgen. Bevorzugt ist die orale Applikation.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, das dadurch gekennzeichnet, dass man mindestens eine Verbindung der Formel I mit einem

20 pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.

Geeignete feste oder galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver,

25 Dragees, Tabletten (Mikro)Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösungen sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel, wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden. Als häufig verwendete Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid,

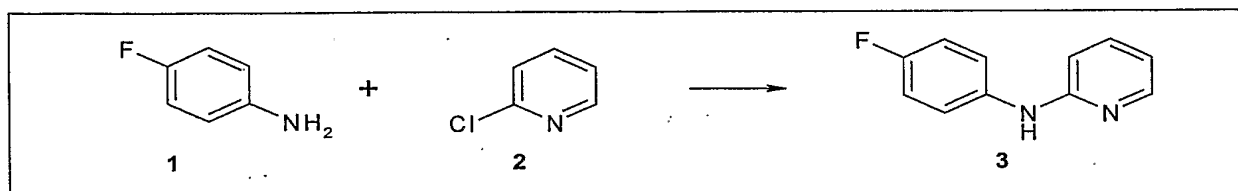
30 Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglykol und Lösungsmittel wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige

- Alkohole wie Glycerin, genannt. Vorzugsweise werden die pharmazeutischen Präparate in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine bestimmte Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung der Formel I enthält. Bei festen Dosierungseinheiten wie Tabletten, Kapseln, Dragees oder Suppositorien, kann diese Dosis bis 5 zu etwa 1000 mg, bevorzugt von etwa 50 mg bis 300 mg und bei Injektionslösungen in Ampullenform bis zu etwa 300 mg, vorzugsweise von etwa 10 mg bis 100 mg, betragen. Für die Behandlung eines erwachsenen, etwa 70 kg schweren Patienten sind je nach Wirksamkeit der Verbindung gemäß Formel I, Tagesdosen von etwa 20 mg bis 1000 mg Wirkstoff, bevorzugt von etwa 100 mg bis 500 mg indiziert. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder 10 niedrigere Tagesdosen angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber mehrerer kleinerer Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.
- 15 Endprodukte werden in der Regel durch massenspektroskopische Methoden (FAB-, ESI-MS) bestimmt. Temperaturangaben in Grad Celsius, RT bedeutet Raumtemperatur (22 °C bis 26 °C). Verwendete Abkürzungen sind entweder erläutert oder entsprechen den üblichen Konventionen. Nachfolgend ist die Erfindung an Hand von Beispielen näher erläutert.

20 Herstellungsbeispiele

A) Anilin Darstellung

A.1.) 2-(p-Fluoranilino)-pyridin (3)



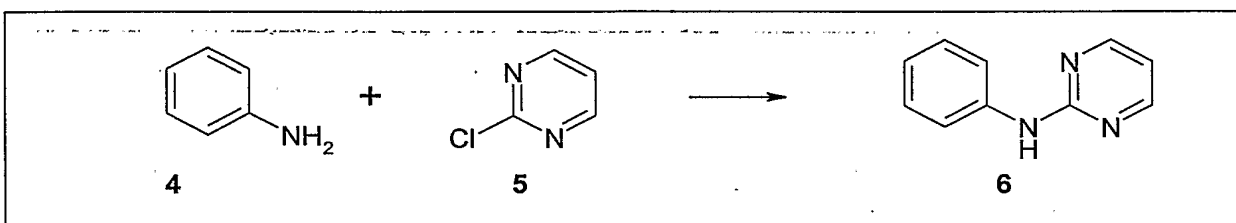
- Eine Mischung aus 29.34 g (0.264 mol) 4-Fluoranilin (1) und 29.98 g (0.264 mol) 2-Chlorpyridin 25 (2) wurden 2 h auf 150 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde zwischen 500 ml 1 N NaOH und 500 ml Essigester verteilt. Die wässrige Phase wurde 2 mal mit je 300 ml Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 500 ml Essigester aufgenommen und ca. 40 g Aktivkohle zugegeben. Man ließ 10 Minuten bei RT rühren und filtrierte dann über Kieselgur

ab. Die Aktivkohle wurde 4 mal mit je 1 l Essigester nachgewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum (i. V.) entfernt und der Rückstand aus 120 ml Essigester ausgerührt. Der Feststoff wurde abgesaugt und bei 50 °C i. V. getrocknet. Man erhielt 41 g 2-(p-Fluoranilino)-pyridin (3); Ausbeute 83%.

5 Summenformel $C_{11}H_9N_2$; M.W. = 188.21; MS (M+H) 189.1.

1H NMR ($CDCl_3$) 6.68-6.75 (m, 2 H), 6.88 (s, 1 H), 7.05 (t, 2 H), 7.24-7.32 (m, 2 H), 7.43-7.49 (m, 1 H), 8.18 (d, 1 H).

A.2.) 2-(Anilino)-pyrimidin (6)

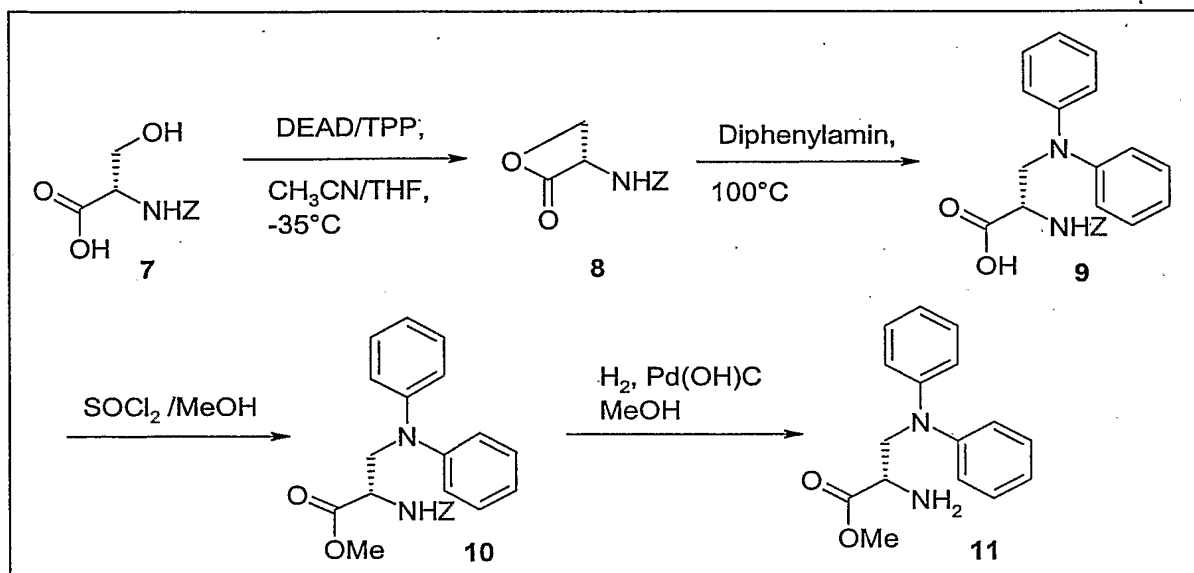


Aus 16.2 g Anilin (4) wurden durch analoger Umsetzung wie unter A.1.) beschrieben, mit 2-Chlorpyrimidin (5), 9.15 g (31 %) des Anilinopyrimidins 6 erhalten.

Summenformel $C_{10}H_9N_3$; M.W. = 171.08; MS (M+H) 172.2.

15 B.) Aminosäuresynthese über das Z-Serin Lacton 8

B.1.) (S)-2-Amino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (11)



B.1.1.) N-Benzoyloxy-carbonyl-L-serin- β -lacton (8)

54.8 g (0.209 mol) Triphenylphosphin wurden in 600 ml Acetonitril suspendiert und unter Ausschluss von Feuchtigkeit auf -35 °C bis -45 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde innerhalb von 50 Minuten tropfenweise 36.4 g (0.209 mol) Azodicarbon-säure-diethylester 5 hinzugegeben. Man rührte 15 Minuten bei -35 °C nach. Zu diesem Gemisch tropfte man dann langsam eine Lösung aus 50 g (0.209 mol) N-Benzoyloxycarbonyl-L-serin (7) in 500 ml Acetonitril, so dass die Temperatur nicht über -35 °C stieg. Anschließend wurden 12 h bei 5 °C gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde die Reaktionslösung unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt mit Mitteldruckchromatographie an Kieselgel 10 gereinigt. (DCM/AcCN : 25/1) Nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhielt man 20.8 g N-Benzoyloxy-carbonyl-L-serin- β -lacton (8); Ausbeute 45 %; (siehe auch Org. Synth. 1991 (70) 1ff.) in feinen Nadeln.

Summenformel $C_{11}H_{11}NO_4$; M.W. = 221.2; MS (M+H) 222.1.

1H NMR (DMSO- d_6) 4.30 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.22 (m, 2H), 7.45 (m, 5H), 8.20 (d, J 15 = 9.8 Hz, 1H).

B.1.2.) (S)-2-Benzoyloxycarbonylamino-3-diphenylamino-propionsäure (9)

5.0 g (22.6 mmol) Serinlacton (5) wurden mit 20 g (118.2mmol) Diphenylamin verrührt und 2h auf 100°C erhitzt. Das Rohprodukt wurde durch Mitteldruckchromatographie an Kieselgel 20 gereinigt. (DCM/Methanol : 9/1, anschließend EE/n-Heptan : 4/1) Nach Entfernen des Lösungsmittels erhielt man 3.65 g (Ausbeute 42%) saubere 2-Benzoyloxycarbonylamino-3-diphenylamino-propionsäure (9).

Summenformel $C_{23}H_{22}N_2O_4$; M.W. = 390.44; MS (M+H) 391.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 3.85 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.9 (m, 2H), 6.9 (m, 5H), 7.25 (m, 25 10H).

B.1.3.) (S)-2-Benzoyloxycarbonylamino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (10)

Zu 75 ml Methanol wurden bei -5°C 6.5 ml (89.1 mmol) Thionylchlorid getropft und 15 min gerührt. Anschließend wurde 3.6 g (9.22 mmol) 2-Benzoyloxycarbonylamino-3-30 diphenylamino-propionsäure (9) in 75 ml Methanol gelöst zugegeben und weitere 3 Stunden (h) bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Evaporierung der Lösungsmittel wurde der Rückstand in Essigester aufgenommen und mit Natriumcarbonat Lösung extrahiert. Die Reinigung mittels Flash-Chromatographie (n-Heptan/Essigester 7:3) lieferte 2.76 g (50%

Ausbeute) von 2-Benzoyloxycarbonylamino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (**10**).

Summenformel $C_{24}H_{24}N_2O_4$; M.W. = 404.47; MS (M+H) 405.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 3.58 (s, 3H), 3.95 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.4 (m, 1H), 4.95 (m, 2H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 9H), 7.85 (d, J = 9.8 Hz, 1H).

5

B.1.4.) (S)-2-Amino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (**11**)

Zur Abspaltung der Z-Schutzgruppe löste man 2.7 g (6.68 mmol) des Z-geschützte Derivates (**10**) in 500 ml Methanol und unter Stickstoff Schutzatmosphäre wurden 100 mg Katalysator (10% Pd(OH) $_2$ -C) zugeführt. Anschließend wurde das Inertgas mit einen großen Überschuss

10 Wasserstoff verdrängt und 2 h in der Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Zum Abbruch der Reaktion wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Man erhielt 1.65 g (Ausbeute: 91%) 2-Amino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (**11**).

Summenformel $C_{16}H_{18}N_2O_2$; M.W. = 270.32; MS (M+H) 271.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 3.45 (s, 3H), 3.58 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 3.95 (m, 1H), 6.9 (m, 6H), 7.3 (m, 4H).

15

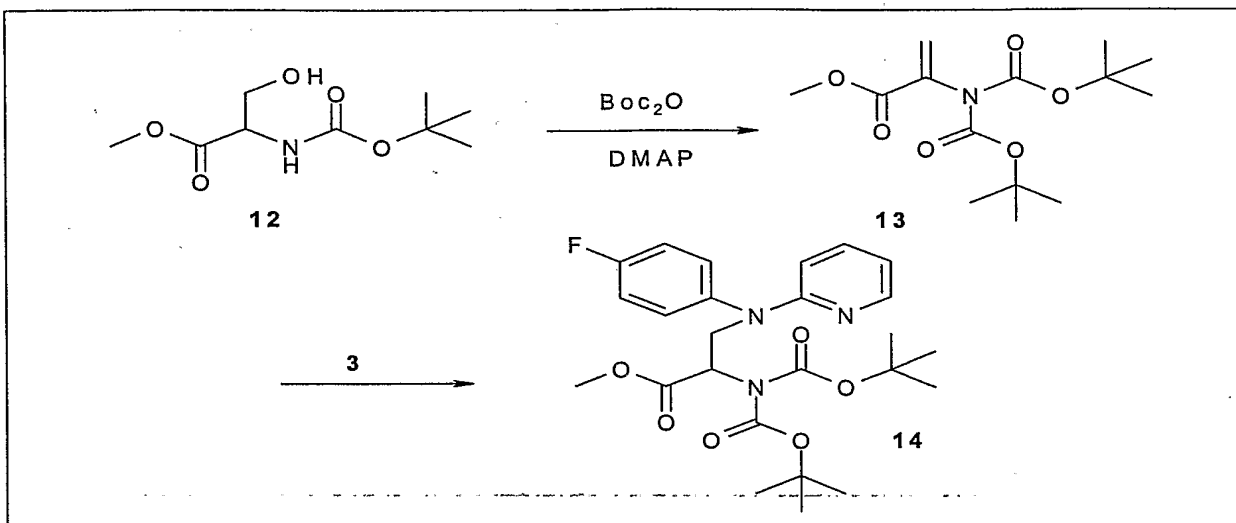
B.2.) Aminosäuresynthese über die Acrylsäure 13

B.2.1.) Enantiomerentrennung

Die über die Acrylsäure hergestellten racemischen Aminosäuren konnten durch präparative HPLC mit chiralen Phasen wie z. B. Chiralpak AD (Daicel) 100x380, RT, Fluss 300ml/min; in die

20 Enantiomere getrennt werden. Die Enantiomerenreinheit konnte durch analytische HPLC wie Chiralpak-AD-H (Daicel) 4.6x250, 30°C, flow 1ml/min, Raumtemperatur) bestimmt werden.

B.2.2.) (3-(N-4-Fluorphenyl-N-2-pyridyl)-amino)-2-(di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (**14**)



B.2.2.1.) 2-(di-tert.-Butyloxycarbonyl)-amino-acrylsäure methylester (13)

50 g (0.228 mol) Boc-Serin (**12**) wurden in 300 ml Acetonitril gelöst. Man gab 107 g (0.493 mol) Boc-Anhydrid und 2.64 g (22 mmol) DMAP hinzu. Man ließ über Nacht bei RT rühren, entfernte das Lösungsmittel i. V. und nahm den Rückstand in 500 ml Essigester auf. Die organische Phase wurde mit 500 ml 1 N HCl gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Durch Kristallisation aus 200 ml Heptan bei -30°C wurden nach Absaugen 23 g der Acrylsäure **13** erhalten. Die Mutterlauge wurde eingeeengt und der Rückstand in 140 ml Acetonitril gelöst. Man gab 31 g (0.142 mol) Boc-Anhydrid und 1.26 g (10 mmol) DMAP hinzu. Nach Erhitzen auf 50°C für 8 h wurde das Lösungsmittel i. V. entfernt und der Rückstand in 500 ml Essigester aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 400 ml 1 N HCl gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittel i. V. wurden durch Kristallisation aus Heptan weitere 31.5 g des Acrylats **13** erhalten. Ausbeute 54.5 g (0.181 mol) 79 %. Summenformel $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{NO}_6$; M.W. = 301.34; MS ($(\text{M}^+2)+\text{Na}^+$) 625.7.

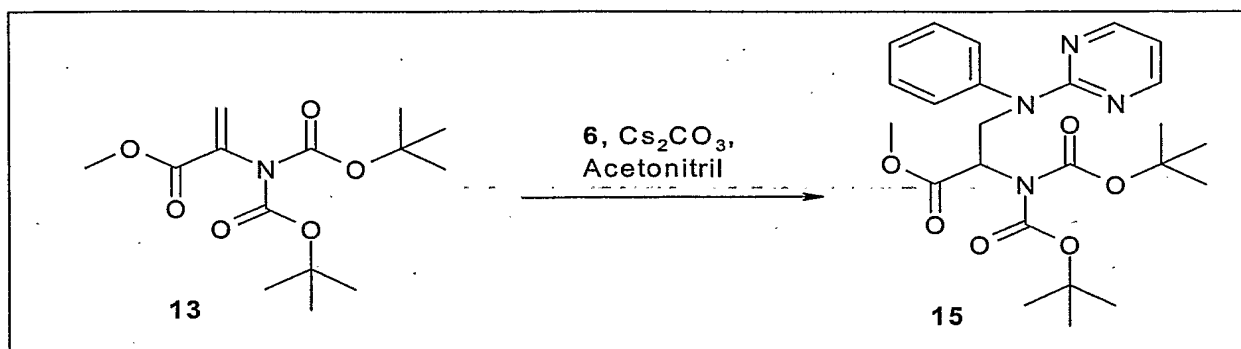
15 ^1H NMR (DMSO- d_6) 1.40 (s, 18 H), 3.74 (s, 3 H), 5.85 (s, 1 H), 6.28 (s, 1 H). B.2.2.2.) (3-(N-4-Fluorphenyl-N-2-pyridyl)-amino)-2-(di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (14)

11.5 g (38.2 mmol) Acrylat **13** wurden mit 7.2 g (38.2 mmol) Anilin **3** und 37.3 g (114 mmol) Cäsiumcarbonat gemischt. Man gab 100 ml Acetonitril hinzu und ließ 2 Tage bei 55°C rühren. Danach ließ man weitere 2 Tage bei RT rühren. Die Feststoffe wurden über Kieselgur abgesaugt und 3 mal mit je 100 ml Acetonitril gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden i. V. vom Lösungsmittel entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 4:1 chromatographiert. Ausbeute: 14 g (75 %) **14**.

Summenformel $C_{25}H_{32}FN_3O_6$; M.W. = 489.55; MS (M+H) 490.6.

1H NMR ($CDCl_3$) 1.28 (s, 18 H), 3.72 (s, 3 H), 4.25 (dd, 1 H), 4.75 (dd, 1 H), 5.83 (dd, 1 H), 6.22 (d, 1 H), 6.56-6.61 (m, 1 H), 7.05-7.12 (m, 2 H), 7.19-7.26 (m, 3 H), 8.18 (d, 1 H).

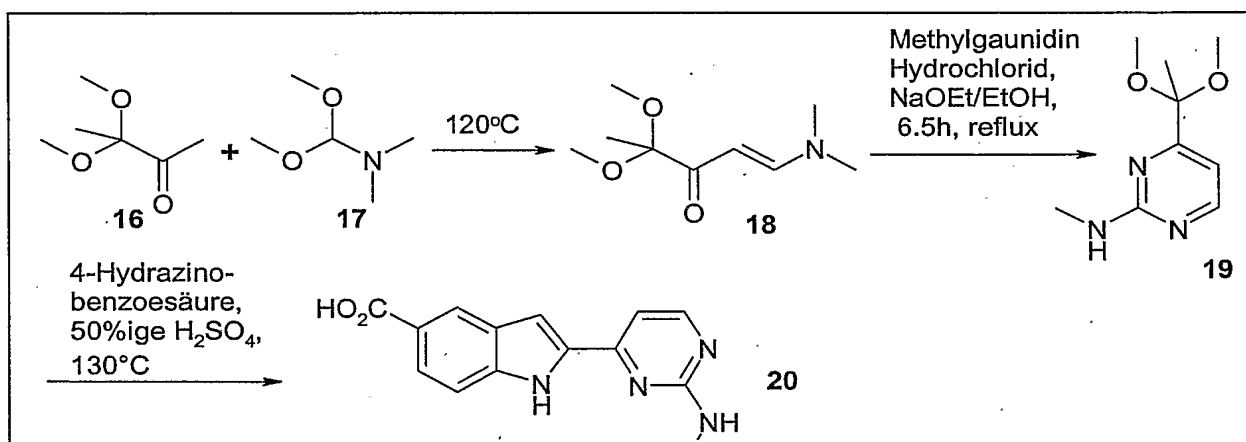
5 B.2.3.) (3-(N-phenyl-N-2-pyrimidyl)-amino)-2-(di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (15)



Aus 35 g 6 wurden unter analoger Durchführung, wie unter B.2.2.2.) beschrieben, 3 g (7 %) der Aminosäure 15 erhalten.

10 Summenformel $C_{24}H_{32}N_4O_6$; M.W. = 472.23; MS (M+H) 473.1.

C.) Synthese der heterozyklischen Grundkörper



C.1.) Indol Grundkörper Synthese:

15 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure (20)

C.1.1.) 1-Dimethylamino-4,4-dimethoxy-pent-1-en-3-on (18)

100 g (0.76 mol) 3,3-Dimethoxy-2-butanon (**16**) wurden mit 90.2 g N,N-Dimethylformamid-dimethylacetal (**17**) (0.76 mol) bei 120°C 48 h gerührt. Das bei der Reaktion entstandene Methanol wurde kontinuierlich von der Reaktionslösung durch Destillation entfernt. Beim

5 Erkalten der Lösung trat spontane Kristallisation ein, welche durch Zugabe von wenig Heptan zur Vollständigkeit gebracht wurde. Man erhielt so 128.24 g Rohprodukt **18** (Ausbeute 90%), welches ohne weitere Reinigung umgesetzt wurde.

Summenformel $C_9H_{17}NO_3$; M.W. = 187.24; MS (M+H) 188.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 1.22 (s, 3H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 9H), 5.39 (d, J = 15 Hz, 1H), 7.59 (d, J = 15
10 Hz, 1H).

C.1.2.) [4-(1,1-Dimethoxy-ethyl)-pyrimidin-2-yl]-methyl-amin (19)

1.22 g (53 mmol) Natrium wurden in 100 ml absoluten Ethanol gelöst. Dazu wurde unter Rühren 5.8 g (53 mmol) Methylguanidinhydrochlorid und 10 g (53 mmol) 1-Dimethylamino-
15 4,4-dimethoxy-pent-1-en-3-on (**18**) gegeben und 4 h auf Siedehitze erwärmt. Zum Abbruch der Reaktion wurde das Ethanol evaporiert. Das so erhaltene Produkt **19** wurde ohne weitere Reinigung für die Folgereaktion eingesetzt. Ausbeute 11.5 g (58 mmol, quantitativ)

Summenformel $C_9H_{15}N_3O_2$; M.W. = 197.24; MS (M+H) 198.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 1.45 (s, 3H), 2.78 (s, 3H), 3.10 (s, 6H), 6.75 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.0 – 7.1(s(b),
20 1H), 8.30 (d, J = 3 Hz, 1H).

C.1.3.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure (20)

In 150 ml 50%iger Schwefelsäure wurden bei Raumtemperatur 5 g (25 mmol) [4-(1,1-Dimethoxy-ethyl)-pyrimidin-2-yl]-methyl-amin (**19**) und 3.85 g 4-Hydrazinobenzoesäure unter Rühren gegeben und 4 h auf 130°C erhitzt. Das bei der Reaktion entstandene Methanol wurde
25 kontinuierlich von der Reaktionslösung durch Destillation entfernt. Nach Abkühlen auf 10°C wurde die Reaktionsmischung auf 200 ml Eis gegossen und mit konzentrierter Natronlauge ein pH-Wert von etwa 5.5 eingestellt. Der dabei entstandene Niederschlag von Natriumsulfat und Produktgemisch wurde abfiltriert und der Filter-Rückstand wurde mehrmals mit Methanol extrahiert. Die vereinigten Methanol Extrakte wurden eingeeengt und das Produkt **20** durch
30 Flash-Chromatographie (DCM/Methanol 9:1) gereinigt. Ausbeute: 0.76 g (11%)

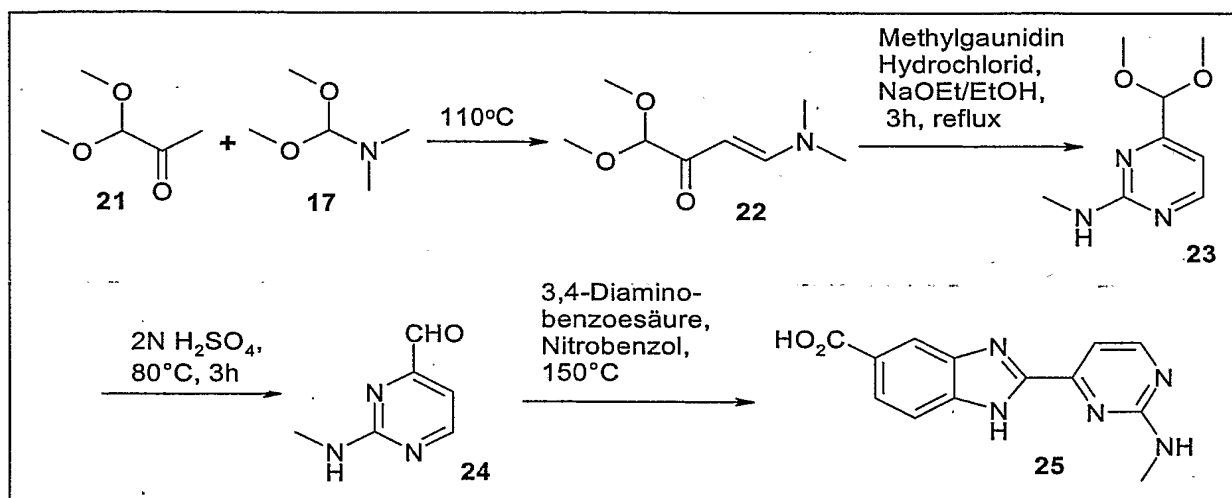
Summenformel $C_{14}H_{13}N_4O_2$; M.W. = 268.28; MS (M+H) 269.1.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s, 3H), 6.90 – 7.10 (s(b), 1H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.4 (s, 1H), 7.58 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.80 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.38 (d, J = 3 Hz,

1H), 11.85 (s, 1H), 12.40 – 12.60 (s(b), 1H).

C.2.) Benzimidazol Grundkörper Synthese:

2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-carbonsäure (25)



5

C.2.1.) 4-Dimethylamin-1,1-dimethoxy-but-3-en-2-on (22)

300 g (307 ml, 2.54 mol) Methylglyoxaldimethylacetal (21) wurden mit 303 g (337 ml, 2.54 mol) N,N-Dimethylformamid-dimethylacetal (17) bei 110°C 4 Stunden (h) gerührt. Das bei der Reaktion entstandene Methanol wurde kontinuierlich von der Reaktionslösung durch

10 Destillation entfernt. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit Heptan extrahiert und die Lösungsmittel evaporiert. Man erhielt so 303 g Rohprodukt 22 (Ausbeute 70%) welches ohne weitere Reinigung umgesetzt wurde.

Summenformel $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_3$; M.W. = 173.21; MS (M+H) 174.1

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 2.10 (s, 1H), 2.80 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.25 (s, 3H), 3.3 (s, 3H), 4.42 (s, 1H),

15 5.19 (d (b), $J = 12.8$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 15$ Hz, 1H).

C.2.2.) (4-Dimethoxymethyl-pyrimidin-2-yl)-methyl-amin (23)

0.33 g (14.4 mmol) Natrium wurden in 50 ml absolutem Ethanol aufgelöst. Dazu wurde unter Rühren 1.57 g (14.4 mmol) Methylguanidinhydrochlorid und 2.48 g (14.4 mmol) 4-Dimethylamin-1,1-dimethoxy-but-3-en-2-on (22) gegeben und 3 h auf Siedehitze erwärmt.

20 Zum Abbruch der Reaktion wurde das Ethanol evaporiert. Das so erhaltene Produkt 23 wurde ohne weitere Reinigung eingesetzt. Ausbeute 2.6 g (quantitativ).

Summenformel $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$; M.W. = 183.21 ; MS (M+H) 184.1.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 2.78 (s, 6H), 3.10 (s, 3H), 5.02 (s, 1H), 6.62 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 8.30 (d, $J = 3$ Hz,

1H).

C.2.3.) 2-Methylamino-pyrimidin-4-carbaldehyd (**24**)

10 g (54 mmol) (4-Dimethoxymethyl-pyrimidin-2-yl)-methyl-amin (**23**) wurden in 54 ml 2N Schwefelsäure aufgelöst und unter Rühren 3 h auf 80°C erwärmt. Nach dem Erkalten der

- 5 Reaktion wurde die Reaktionslösung vorsichtig mit festen Na₂CO₃ auf pH von etwa 9 gebracht und mit Ethanol 3 mal extrahiert. Die vereinigten getrockneten Extrakte ergaben nach Evaporierung des Lösungsmittels den Titelaldehyd **24** in 60%iger Ausbeute (4.47g)

Summenformel C₆H₇N₃O; M.W. = 137.12 ; MS (M+H) 138.2.

¹H NMR (DMSO-d₆) 2.60 – 2.80 (s(b), 3H), 6.95 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.40 – 7.60 (s(b), 1H), 8.55 (d, J =
10 3 Hz, 1H).

C.2.4.) 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-carbonsäure (**25**)

4.3 g (31.3 mmol) Methylamin-pyrimidin-4-carbaldehyd (**24**) und 4.8 g (31.1 mmol) 3,4-

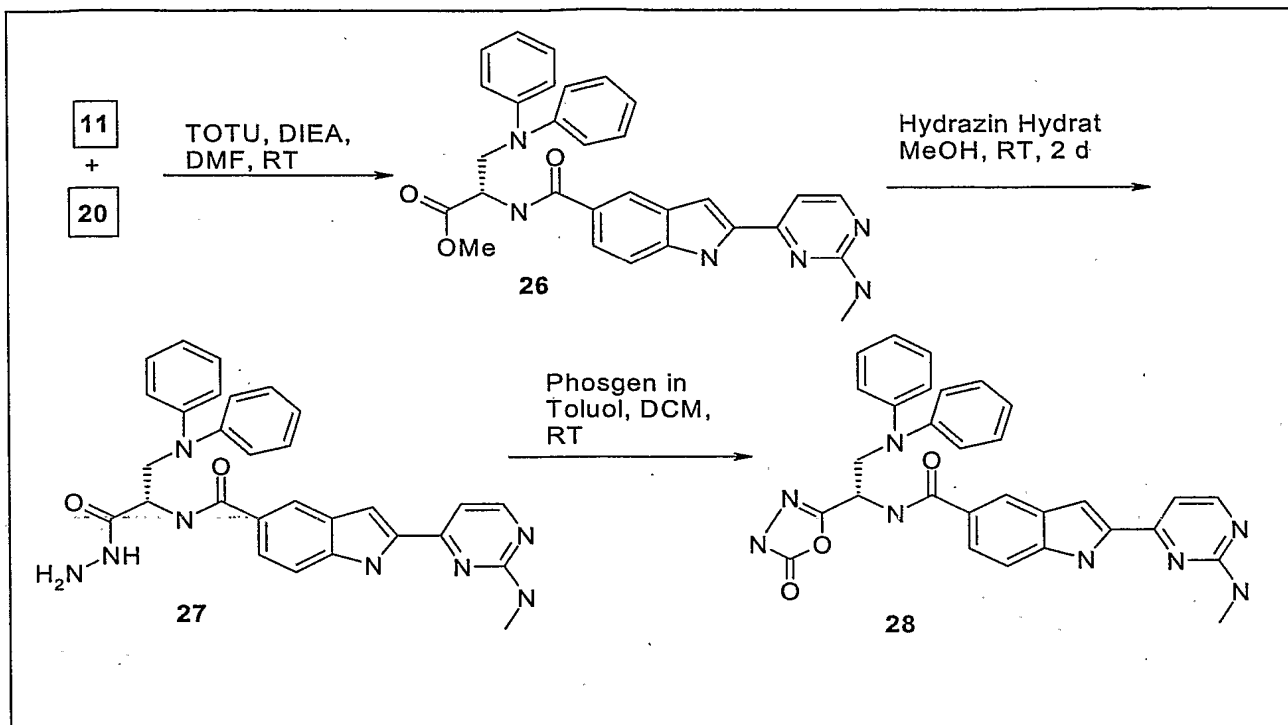
- 15 Diamino-benzoesäure wurden in 300 ml Nitrobenzol 2 h auf 150°C erhitzt. Nach Abkühlen auf 0°C wurde der Niederschlag des Benzimidazols durch Filtration von dem Nitrobenzol getrennt und das Produkt **25** durch Flash-Chromatographie (DCM/Methanol 4 :1) gereinigt. Ausbeute: 2.66 g (32%)

Summenformel C₁₃H₁₁N₅O₂; M.W. = 269.28; MS (M+H) 270.2.

- ¹H NMR (DMSO-d₆) 2.95 (s, 3H), 7.50 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 4.5
20 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.55 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.70 – 9.05 (s(b), 1H).

D.) Indol Endprodukte

D.1.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamino-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid (**28**)



D.1.1.) 3-Diphenylamino-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonyl]- (S)-amino]- propionsäure methyl ester (**26**)

- 5 5.0 g (18.64 mmol) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure (**20**) wurden in 1.2 l DMF gelöst und nacheinander mit 7.9 g (24.08 mmol) TOTU und 7.9 ml (46.45 mmol) Ethyldiisopropylamin versetzt. Man rührte 20 min. bei 5°C und gab zu der Lösung 0.73 g (3.28 mmol) (S)-2-Amino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (**11**) hinzu. Nach 15 h Rühren engte man unter vermindertem Druck ein, nahm den Rückstand in n-Butanol auf und
- 10 extrahierte die organische Phase zur Abtrennung von Nebenprodukten mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. Nach dem Trocknen mit MgSO₄ und Einengen der organischen Phase wurde der Methylester der Titelverbindung **26** durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (DCM:MeOH= 19:1) isoliert. Ausbeute: 4.3 g (98%)
- Summenformel C₃₀H₂₈N₆O₃; M.W. = 520.22; MS (M+H) 521.3.
- 15 ¹H NMR (DMSO-d₆) 2.95 (s(b), 3H), 3.60 (s, 3H), 4.19 – 4.58 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90 – 7.10 (m, 7H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.25 – 7.40 (m, 5H), 7.50 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.35 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.70 (d, J = 3.75 Hz, 1H), 11.85 (s, 1H).

D.1.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure ((S)-2-diphenylamino-1-hydrazin-carbonyl-ethyl)-amid (**27**)

1.0 g (1.92 mmol) 3-Diphenylamino-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonyl]-(S)-amino]-propionsäure methyl ester (**26**) wurden in 10 ml Methanol gelöst, mit 0.48 g (9.95 mmol) Hydrazinhydrat versetzt und 15 h bei RT gerührt. Der Niederschlag des Produktes (0.3 g) wurde durch Filtration von der Mutterlauge getrennt. Aus der eingeeengten Mutterlauge wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (DCM:MeOH= 19:1) weiteres Hydrazid **27** (0.1g) isoliert. Ausbeute: 0.4 g (40%)

Summenformel $C_{29}H_{28}N_8O_2$; M.W. = 520.6; MS (M+H) 521.4.

¹H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 4.02 – 4.58 (m, 2H), 4.4 (s, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90 – 7.10 (m, 7H), 7.18 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.20 – 7.45 (m, 5H), 7.50 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.25 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.35 (s(b), 1H), 9.30 (s, 1H), 11.70 (s, 1H).

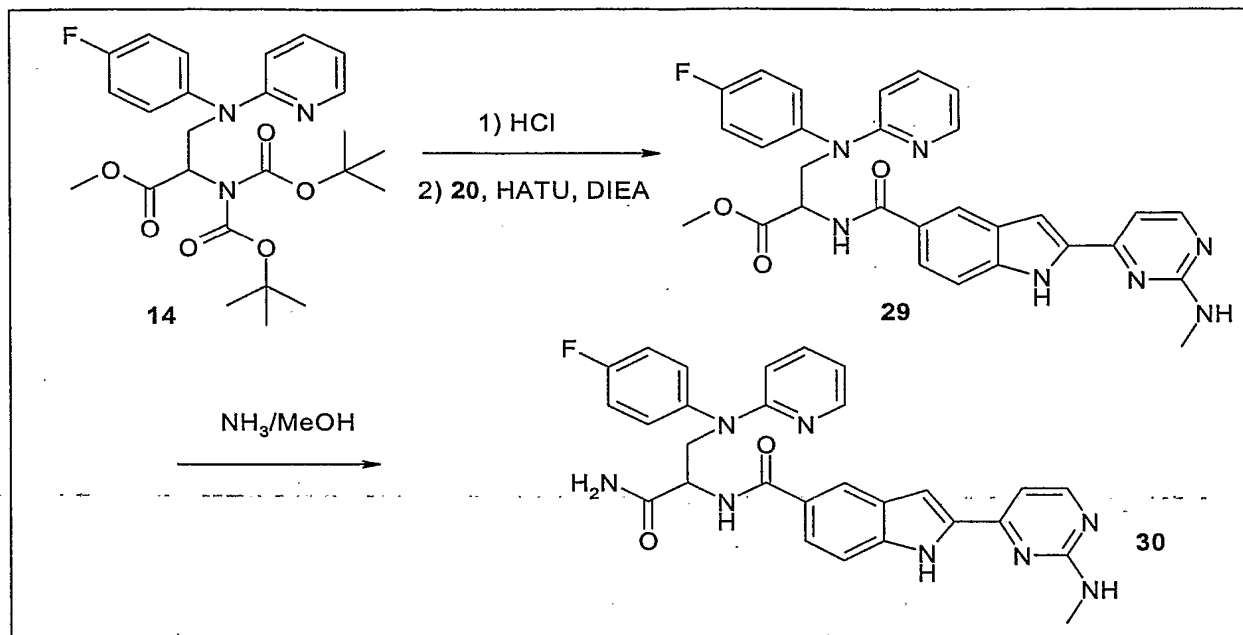
D.1.3.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamino-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid (**28**)

200 mg (0.384 mmol) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure ((S)-2-diphenylamino-1-hydrazincarbonyl-ethyl)-amid (**27**) wurden in 20 ml Methylenchlorid suspendiert und bei 0°C wurde eine 20%ige Phosgen Lösung in Toluol (0.398 mmol) unter Rühren zugetropft. Es wurde weitere 15 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel eingeeengt. Das Oxadiazolon **28** wurde anschließend durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (DCM:MeOH= 9 :1) isoliert. Ausbeute: 160 mg (76%)

Summenformel $C_{30}H_{26}N_8O_3$; M.W. = 546.6; MS (M+H) 547.3.

¹H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 4.02 – 4.58 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.90 – 7.10 (m, 7H), 7.15 (d, J = 3 Hz, 1H), 7.20 – 7.40 (m, 6H), 7.52 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.92 (d, J = 3 Hz, 1H), 11.78 (s, 1H), 12.15 – 12.40 (s(b), 1H).

D.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluorophenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (**30**)



D.2.1.) 3-[(4-Fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (**29**)

0.75 g (1.53 mmol) **14** wurden in 10 ml Dioxan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man gab 10 ml 4 N HCl in Dioxan hinzu, ließ innerhalb von 2 h auf RT kommen und 12 h nachrühren. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen (**Lösung A**). 617 mg der Säure **20** wurden in 20 ml DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man gab 1.05 g HATU sowie 1.6 ml DIEA hinzu. Nach Rühren für 40 Minuten bei 0 °C wurde **Lösung A** hinzugegeben. Man ließ auf RT kommen und rührte 4 h nach. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand zwischen 100 ml gesättigter (ges.) NaHCO₃-Lösung und 100 ml Essigester verteilt. Die wässrige Phase wurde 3 mal mit je 50 ml Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit 100 ml gesättigte NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 1:3 chromatographiert. Man erhielt 560 mg (68 %) des Esters **29**. Summenformel C₂₉H₂₆FN₇O₃; M.W. = 539.57; MS (M+H) 540.2.

D.2.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluorophenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (**30**)

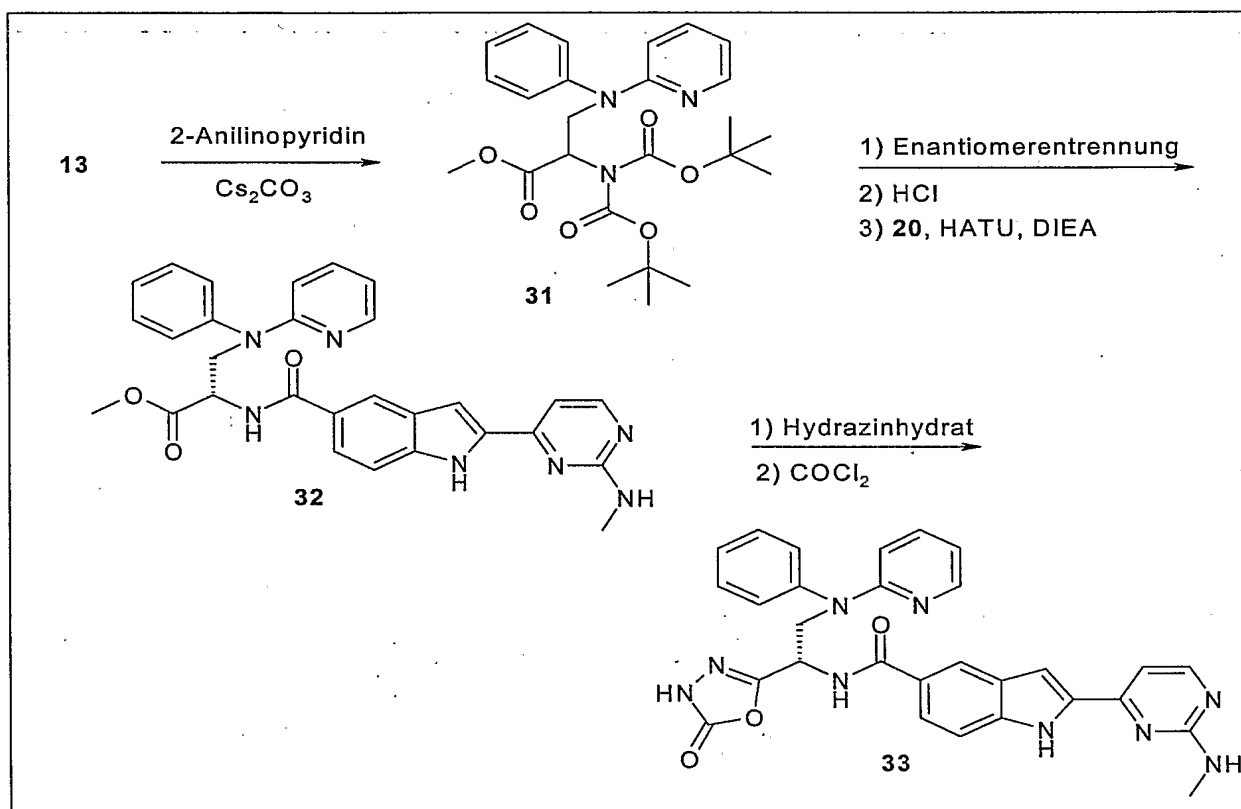
320 mg (0.593 mmol) des Esters **29** wurden bei 0 °C in 50 ml Ammoniak gesättigtem Methanol gelöst. Man ließ 24 h rühren und auf RT kommen. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt und

der Rückstand aus 5 ml Essigester ausgerührt. Der Feststoff wurde abgesaugt und bei 50 °C i. V. getrocknet. Man erhielt 270 mg (87 %) des Amids **30**.

Summenformel $C_{28}H_{25}FN_8O_2$; M.W. = 524.56; MS (M+H) 525.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.45 (s, 3 H), 4.10 (d, 1 H), 4.52-4.66 (m, 2 H), 6.26 (d, 1 H), 6.77 (t, 1 H), 7.02 (bs, 1 H), 7.09-7.17 (m, 2 H), 7.22-7.32 (m, 5 H), 7.38-7.46 (m, 1 H), 7.47-7.58 (m, 3 H), 7.92 (s, 1 H), 8.27-8.36 (M, 2 H), 8.59 (d, 1 H), 11.70 (s, 1 H).

D.3.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [(S)-1-(5-oxo-4,5-dihydro-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**33**)



D.3.1.) (3-(N-Phenyl-N-2-pyridyl)-amino)-2-(di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (**31**)

4.96 g (16.5 mmol) Acrylat **13** wurden mit 5.6 g (32.9 mmol) 2-Anilinopyridin und 32.16 g (98.7 mmol) Cäsiumcarbonat gemischt. Man gab 50 ml Acetonitril hinzu und ließ 2 Tage bei 45 °C rühren. Der Feststoff wurde über Kieselgur abgesaugt und 3 mal mit je 100 ml Acetonitril gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden eingeeengt und der Rückstand an

Kieselgel mit Heptan/Diethylether 1:1 chromatographiert. Man erhielt 5.66 g (73 %) des Esters **31**. Summenformel $C_{25}H_{33}N_3O_6$; M.W. = 471.56; MS (M+H) 472.2.

D.3.2.) Die Enantiomèrentrennung erfolgte wie unter B.2.1.) beschrieben.

5 D.3.3.) 2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-propionic acid methyl ester (**32**)

2.9 g des S-Enantiomeren von **31** wurden in 30 ml Dioxan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man gab 30 ml 4 N HCl in Dioxan hinzu, ließ auf RT kommen und 12 h nachrühren. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt. Der Rückstand wurde in 30 ml DMF aufgenommen (**Lösung A**).

10 2.47 g (9.2 mmol) der Säure **20** wurden in 50 ml DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man gab 4.21 g HATU sowie 6.4 ml DIEA hinzu. Nach Rühren für 45 Minuten bei 0 °C ließ man auf RT kommen und gab **Lösung A** hinzu. Man ließ 12 h bei RT rühren. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand zwischen 300 ml ges. $NaHCO_3$ -Lösung und 300 ml Essigester verteilt. Die wässrige Phase wurde 3 mal mit je 100 ml Essigester extrahiert und die
15 vereinigten organischen Phasen mit 400 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt und der Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 1:3 chromatographiert. Man erhielt 1.78 g (55 %) des Esters **32**.

Summenformel $C_{29}H_{27}N_7O_3$; M.W. = 521.58; MS (M+H) 522.2.

20

D.3.4.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [(S)-1-(5-oxo-4,5-dihydro-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**33**)

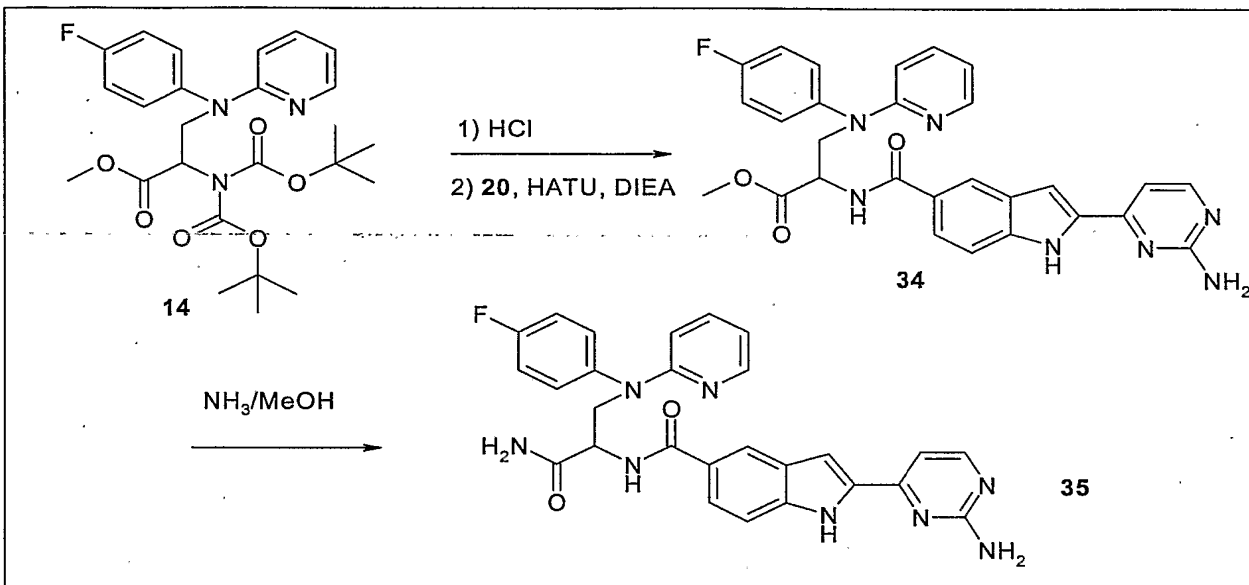
1.78 g (3.4 mmol) Ester **32** wurden in 30 ml MeOH gelöst. Man gab 0.83 ml Hydrazinhydrat hinzu und ließ 5 h bei 40 °C rühren. Danach wurden weitere 1.6 ml Hydrazinhydrat zugegeben

25 und 15 h bei RT gerührt. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt und der Rückstand in 80 ml Dichlormethan aufgenommen. Man gab 3.2 ml einer 20 %-igen Lösung von Phosgen in Toluol hinzu und ließ 3 Tage rühren. Danach wurde das Lösungsmittel i. V. entfernt und der Rückstand zwischen 80 ml Wasser und 80 ml Essigester verteilt. Dabei fiel ein Feststoff aus der abgesaugt wurde. Die organische Phase wurde eingeeengt und der Rückstand mit dem Feststoff
30 vereinigt und an Kieselgel mit Heptan/Essigester 1:5 chromatographiert. Man erhielt 390 mg (21 %) des Oxadiazolons **33**. Summenformel $C_{29}H_{25}N_9O_3$; M.W. = 547.58; MS (M+H) 548.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.96 (s, 3 H), 4.30 (dd, 1 H), 4.67 (dd, 1 H), 5.40 (dd, 1 H), 6.32 (d, 1 H), 6.70-6.75 (m, 1 H), 6.98 (bs, 1 H), 7.16 (d, 1 H), 7.22-7.33 (m, 4 H), 7.38-7.46 (m, 3 H), 7.52 (d, 1 H),

7.63 (d, 1 H), 8.08 (s, 1 H), 8.21 (d, 1 H), 8.31-8.35 (m, 1 H), 9.00 (d, 1 H), 11.72 (s, 1 H), 12.15 (s, 1 H).

D.4.) 2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (35)



D.4.1.) 3-[(4-Fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-2-[[2-(2-amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (34)

Aus 750 mg **14** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.1.) beschrieben, 370 mg **10** (46 %) des Methylesters **34** erhalten.

Summenformel C₂₈H₂₄FN₇O₃; M.W. = 525.55; MS (M+H) 526.2.

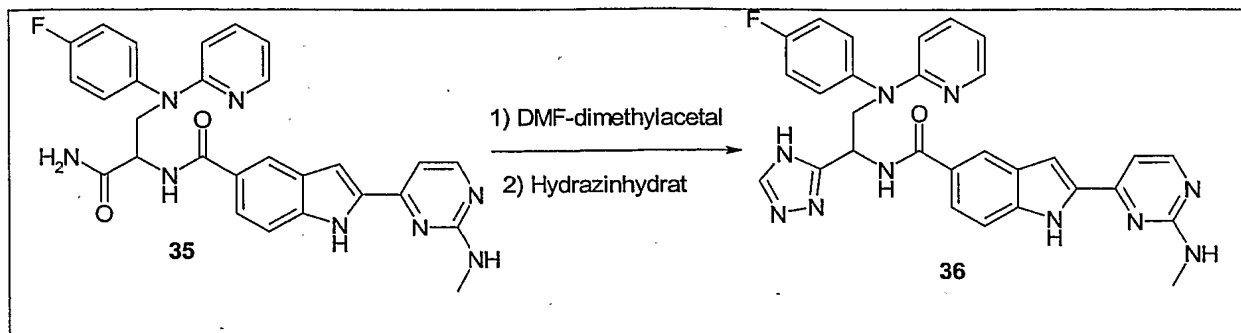
D.4.2.) 2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (35)

15 Aus 150 mg **34** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 95 mg (65 %) des Amids **35** erhalten.

Summenformel C₂₇H₂₃FN₈O₂; M.W. = 510.54; MS (M+H) 511.2.

¹H NMR (DMSO-d₆) 4.08-4.17 (m, 1 H), 4.54-4.65 (m, 2 H), 6.29 (d, 1 H), 6.54 (s, 2 H), 6.74-6.80 (m, 1 H), 7.10 (s, 1 H), 7.18 d, 1 H), 7.22-7.31 (m, 4 H), 7.38-7.56 (m, 6 H), 7.92 (s, 1 H), 8.29-8.35 (m, 2 H), 8.74 (d, 1 H), 11.80 (s, 1 H).

D.5.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-1-(4H-[1,2,4]triazol-3-yl)-ethyl]-amide (36)

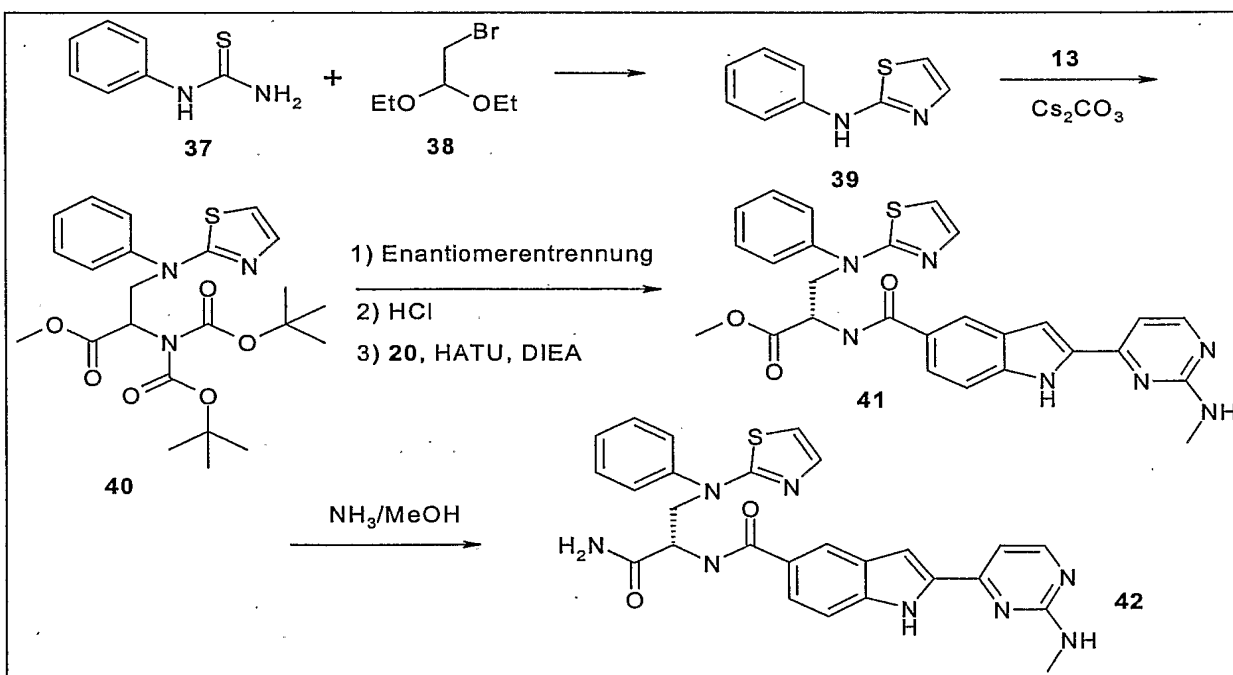


30 mg (0.25 mmol) Amid **35** wurden in 10 ml DMF gelöst. Man gab 40 µl DMF-dimethylacetal hinzu und erhitze 4 h auf 90 °C. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand in 3.5 ml Essigsäure aufgenommen. Nach Zugabe von 27 µl Hydrazinhydrat ließ man 18 h rühren. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt 84 mg (50 %) des Triazols **36**.

Summenformel $C_{29}H_{25}FN_{10}O$; M.W. = 548.59; MS (M+H) 549.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 3.04 (s, 3 H), 4.36-4.43 (m, 1 H), 4.49-4.59 (m, 1 H), 5.60-5.67 (m, 1 H), 6.50 (d, 1 H), 6.78 (t, 1 H), 7.17-7.37 (m, 7 H), 7.45-7.65 (m, 4 H), 8.02 (s, 1 H), 8.19 (d, 1 H), 8.35 (d, 10 H), 8.39 (d, 1 H), 11.85 (s, 1 H).

D.6.) S-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [1-carbamoyl-2-(phenylthiazol-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**42**)



D.6.1.) Phenyl-thiazol-2-yl-amine (**39**)

10 g (65.7 mmol) Phenylthioharnstoff **37** wurden in 100 ml Essigsäure gelöst. Man gab 9.9 ml des Acetals **38** hinzu und erhitzte für 2 h auf 100 °C. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand zwischen 300 ml 1 N NaOH und 300 ml Essigester verteilt. Die wässrige Phase wurde 2 ml mit je 100 ml Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand aus 50 ml Diisopropylether ausgerührt. Der Feststoff wurde abgesaugt und bei 50 °C i. V. getrocknet. Man erhielt 2.5 g Anilin **39**. Die Diisopropylether Mutterlauge wurde eingeeengt und der Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 2:1 chromatographiert. Dadurch wurden weitere

10 3.5 g **39** erhalten. Ausbeute: 6.0 g (52 %).
 Summenformel $C_9H_8N_2S$; M.W. = 176.24; MS (M+H) 177.1.

D.6.2.) (3-(N-Phenyl-N-2-thiazolyl)-amino)-2-(di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (**40**)

15 Aus 3.8 g (12.5 mmol) Acrylat **13**, 2.2 g (12.5 mmol) Anilin **39** und 20 g Cäsiumcarbonat wurden analog der Durchführung wie unter D.3.1.) beschrieben, 4.5 g (75 %) Ester **40** erhalten.
 Summenformel $C_{23}H_{31}N_3O_6S$; M.W. = 477.58; MS (M+H) 478.2.

D.6.3.) Die Enantiomerentrennung erfolgte wie unter B.2.1.) beschrieben.

20 D.6.4.) S-2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-(phenyl-thiazol-2-yl-amino)-propionic acid methyl ester (**41**)

Aus 1.07 g (2.2 mmol) Ester **40** und 901 mg (3.3 mmol) Säure **20** wurden analog der Durchführung wie unter D.3.3.) beschrieben, 640 mg (55 %) **41** erhalten.

Summenformel $C_{27}H_{25}N_7O_3S$; M.W. = 527.61; MS (M+H) 528.1.

25

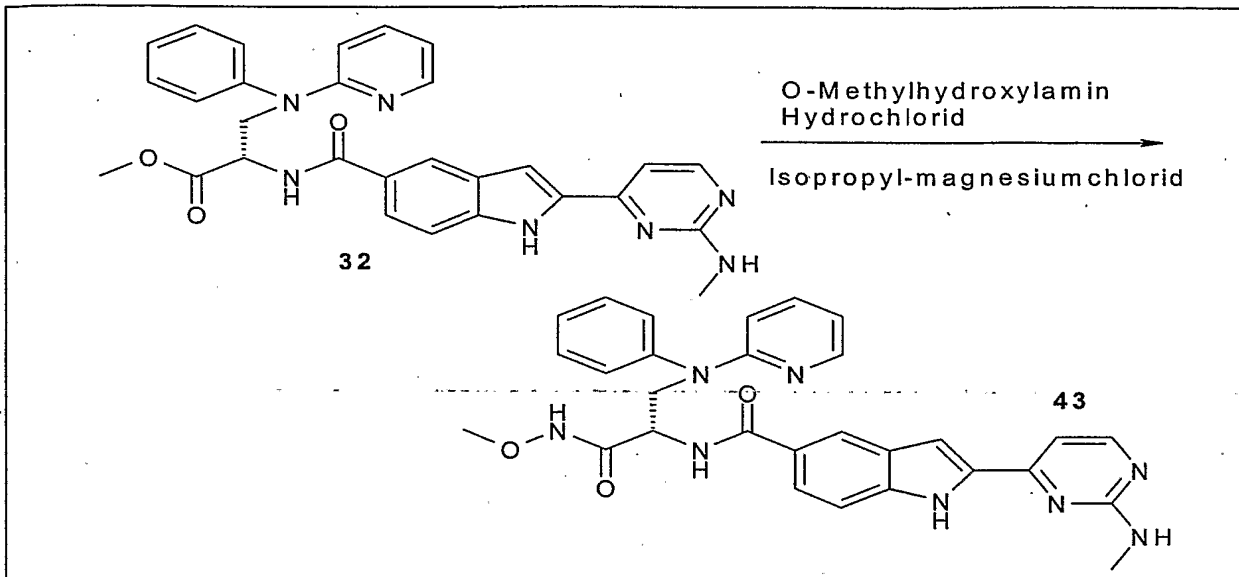
D.6.4.) S-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [1-carbamoyl-2-(phenyl-thiazol-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**42**)

Aus 500 mg (0.95 mmol) **41** wurden analog der Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 340 mg (70 %) des Amids **42** erhalten.

30 Summenformel $C_{26}H_{24}N_8O_2S$; M.W. = 512.60; MS (M+H) 513.3.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.97 (s, 3 H), 4.23-4.30 (m, 1 H), 4.39-4.48 (m, 1 H), 4.71-4.78 (m, 1 H), 6.78 (d, 1 H), 7.16 (d, 1 H), 7.28-7.35 (m, 3 H), 7.37-7.60 (m, 7 H), 7.98 (s, 1 H), 8.33 (d, 1 H), 8.62 (d, 1 H), 11.70 (s, 1 H).

D.7.) S-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [1-methoxycarbamoyl-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amide (43)

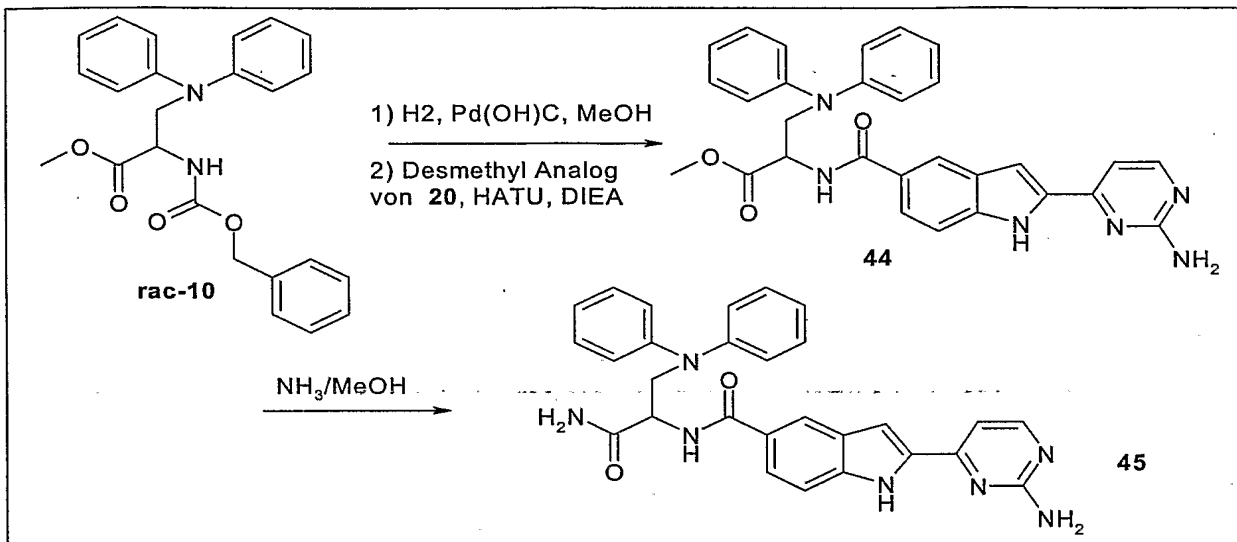


80 mg (0.95 mmol) O-Methylhydroxylamin Hydrochlorid wurden in 10 ml THF gelöst und auf 5 – 40 °C gekühlt. Man tropfte 0.95 ml (1.9 mmol) einer 2 M Lösung von Isopropylmagnesiumchlorid in THF zu. Innerhalb von 1 h ließ man auf – 20 °C kommen. Dann wurde eine Lösung von 100 mg (0.19 mmol) Ester **32** in 3 ml THF zugetropft. Innerhalb von 4 h ließ man auf RT kommen und beendete die Reaktion durch Zugabe von 5 ml Wasser. Das THF wurde i. V. entfernt und der Rückstand zwischen 20 ml gesättigte Ammoniumchlorid Lösung und 20 ml Essigester verteilt. Die wässrige Phase wurde 3 mal mit je 20 ml Essigester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. V. entfernt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt 60 mg (61 %) des Methylhydroxamats **43**.

Summenformel $C_{29}H_{28}N_8O_3$; M.W. = 536.60; MS (M+H) 537.2.

15 1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s, 3 H), 3.52 (s, 3 H), 4.09-4.18 (m, 1 H), 5.51-4.62 (m, 2 H), 6.33 (d, 1 H), 6.78 (t, 1 H), 7.00 (bs, 1 H), 7.18 (d, 1 H), 7.25-7.33 (m, 4 H), 7.49-7.61 (m, 5 H), 7.98 (s, 1 H), 8.29-8.36 (m, 2 H), 8.79 (d, 1 H), 11.31 (s, 1 H), 11.75 (s, 1 H).

D.8.) 2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (45)



D.8.1.) 3-[(Phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-2-[[2-(2-amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-5-amino]-propionic acid methyl ester (44)

Aus 540 mg **rac-10** wurden unter analoger Durchführung wie unter B.1.4) und D.1.1.) beschrieben, 816 mg (80 %) des Methylesters **44** erhalten.

Summenformel C₂₉H₂₆N₆O₃; M.W. = 506.56; MS (M+H) 507.37.

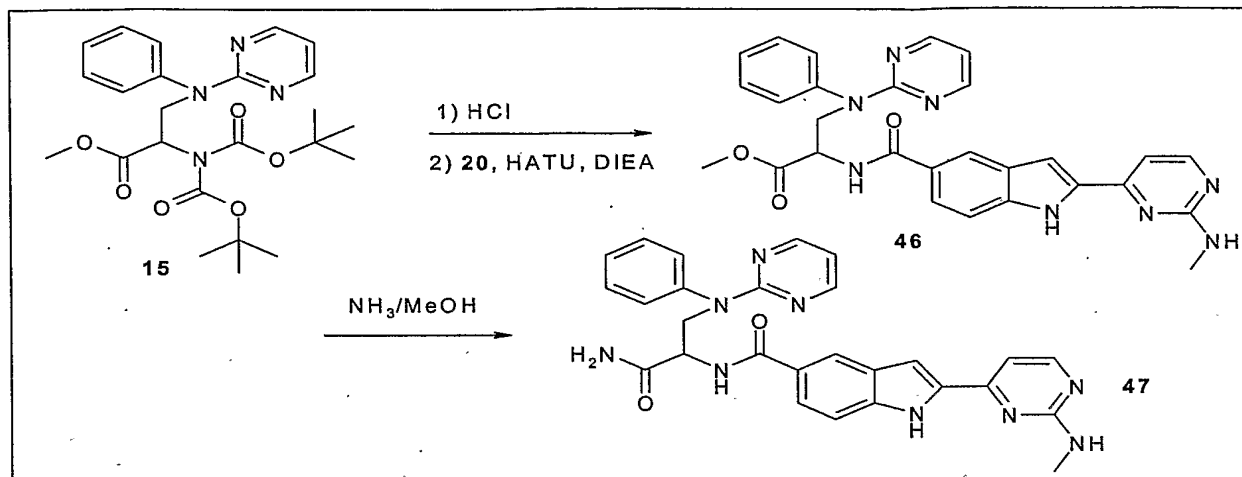
10 D.8.2.) 2-(2-amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (45)

Aus 150 mg **44** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 162 mg (67 %) des Amids **45** erhalten.

Summenformel C₂₈H₂₅N₇O₂; M.W. = 491.56; MS (M+H) 492.32.

15 ¹H NMR (DMSO-d₆) 3.18 (s(b), 3H), 4.05 – 4.13 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.58 (s(b), 2H), 6.88 – 7.59 (m, 19H), 7.98 (s, 1H), 8.25 (d, J = 3 Hz, 1H), 8.35 (d, J = 2 Hz, 1H), 11.78 (s, 1H).

D.9.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(- phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (47)



D.9.1.) 3-[(phenyl)-pyridimyl-2-yl-amino]-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (**46**)

Aus 2.36 g **15** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.1.) beschrieben, 1.75 mg (67 5 %) des Methylesters **46** erhalten.

Summenformel C₂₈H₂₆N₈O₃; M.W. = 522.57; MS (M+H) 523.3.

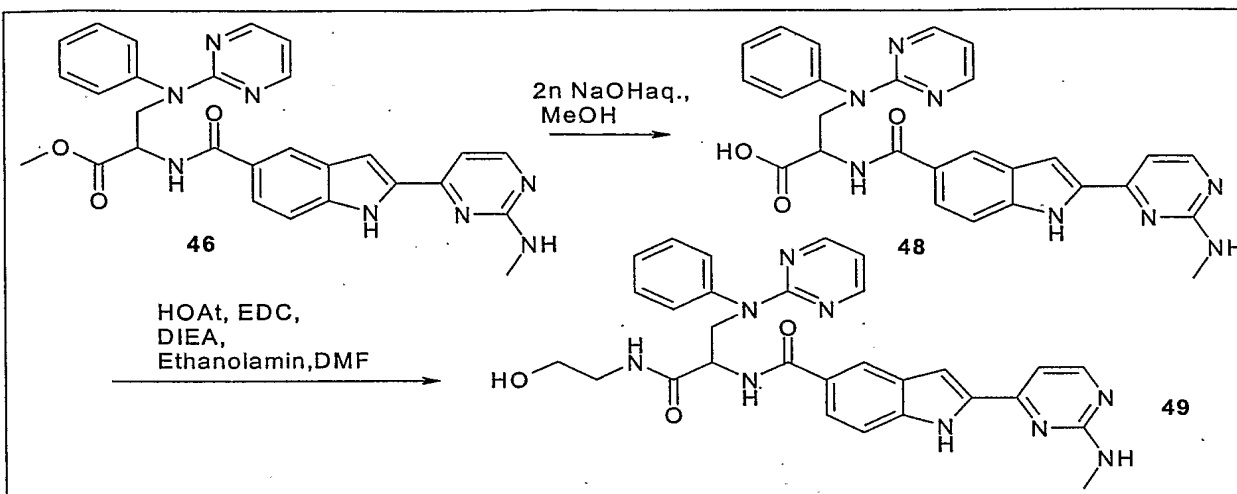
D.9.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (**47**)

Aus 700 mg **46** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 440 mg 10 (65 %) des Amids **47** erhalten.

Summenformel C₂₇H₂₅N₉O₂; M.W. = 507.21; MS (M+H) 508.4.

¹H NMR (DMSO-d₆) 3.0.(s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1 H), 4.45-4.59 (m, 2 H), 4.75 – 4.90 (m, 1 H), 6.75 (m, 1 H), 7.10-7.60 (m, 12 H), 7.95 (s, 1 H), -8.35 - 8.45 (m, 4 H), 11.85 (s(b), 1 H).

D.10.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [1-(2-hydroxy-15 ethylcarbamoyl)-2-(phenyl-pyrimidin-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**49**)



D.10.1.) 2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-(phenyl-pyrimidin-2-yl-amino)-propionic acid (**48**)

4.0 g des Methylesters **46** wurde in 400 ml Methanol gelöst. Dazu wurden 40 ml 2 N wässriger NaOH Lösung gegeben und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Evaporieren der Lösungsmittel wurde der Rückstand mit Wasser aufgelöst und mit gesättigter NaH_2PO_4 -Lsg auf pH~5 eingestellt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Man erhielt so 1.3 g (Ausbeute 93%) die Säure **48**.

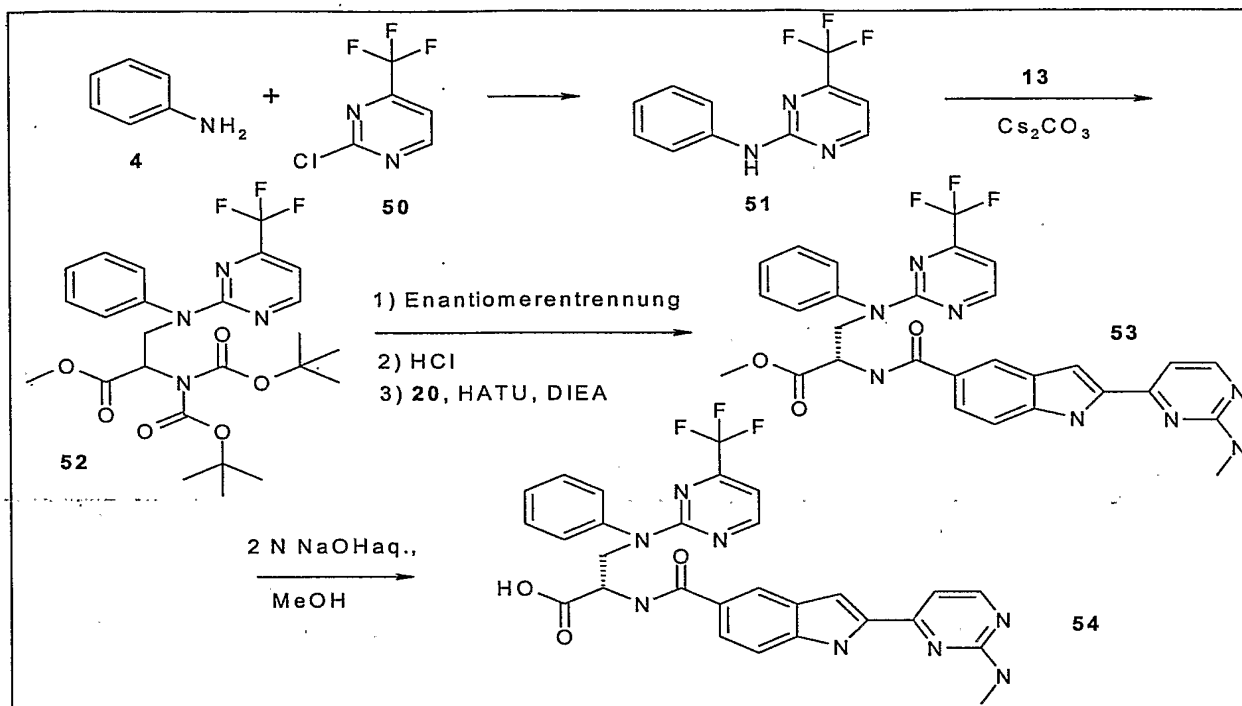
Summenformel $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_3$; M.W. = 506.21; MS (M+H) 507.3.

10 D.10.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid [1-(2-hydroxyethylcarbamoyl)-2-(phenyl-pyrimidin-2-yl-amino)-ethyl]-amide (**49**)

200 mg der Säure **48** wurden in 2 ml absoluten DMF gelöst. Dazu gab man 94 mg HOAt und 158 μl DIEA. Anschließend wurden 56 μl Ethanolamine zugetropft auf 0°C abgekühlt und 195 mg EDC zugegeben. Nach 2 Tagen Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel 15 evaporiert und das Rohprodukt mittels MPLC (Elutionsmittel: DCM : MeOH = 9:1) gereinigt. Ausbeute: 108 mg (50%) des Titelamids **49**. Summenformel $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_2$; M.W. = 549.64; MS (M+H) 550.4.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) 1,2 (t, 2H), 3.0 (s(b), 3H), 3,35 (t, 1H), 4.00-4.32 (m, 2H), 4.80 – 4.99 (m, 1 H), 6.95 (m, 1 H), 7.00-7.65 (m, 7 H), 7.90 (m, 1 H), -8.35 - 8.40 (m, 1 H), 11.90 (s(b), 1 H).

20 D.11.) (S)-2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-[phenyl-(4-trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-propionic acid (**54**)



D.11.1.) Phenyl-(4-trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amine (51)

Aus 5.1 g Anilin (4) und 5 g Chlorpyrimidin 50 wurden unter analoger Durchführung wie unter A.1.) beschrieben 5.1 g (78 %) Anilin 51 erhalten.

5 Summenformel C₁₁H₈F₃N₃; M.W. = 239.20; MS (M+H) 240.1.

D.11.2.) (3-(N-Phenyl-N-4-trifluormethylpyrimidin-2-yl)-amino)-2-di-tert.-butyloxycarbonyl)-amino-propionsäure methylester (52)

Aus 2.5 g (8.4 mmol) Acrylat 13, 3 g (12.5 mmol) Anilin 51 und 16 g (50 mmol) Cäsiumcarbonat 10 wurden analog der Durchführung wie unter D.3.1.) beschrieben, 3.9 g (86 %) des Esters 52 erhalten. Summenformel C₂₅H₃₁F₃N₄O₆; M.W. = 540.54; MS (M+H) 541.2.

D.11.3.) Die Enantiomerentrennung erfolgte wie unter B.2.1.) beschrieben.

D.11.4.) S-2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-[phenyl-(4-trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-propionic acid methyl ester (53)

Aus 743 mg (1.375 mmol) des S-Enantiomers des Esters 52 und 550 mg (1.436 mmol) der Säure 20 wurden analog der Durchführung wie unter D.3.3. beschrieben, 467 mg (58 %) 53 erhalten. Summenformel C₂₉H₂₅F₃N₈O₃; M.W. = 590.57; MS (M+H) 591.7.

20 D.11.5.) (S)-2-[[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-3-[phenyl-(4-

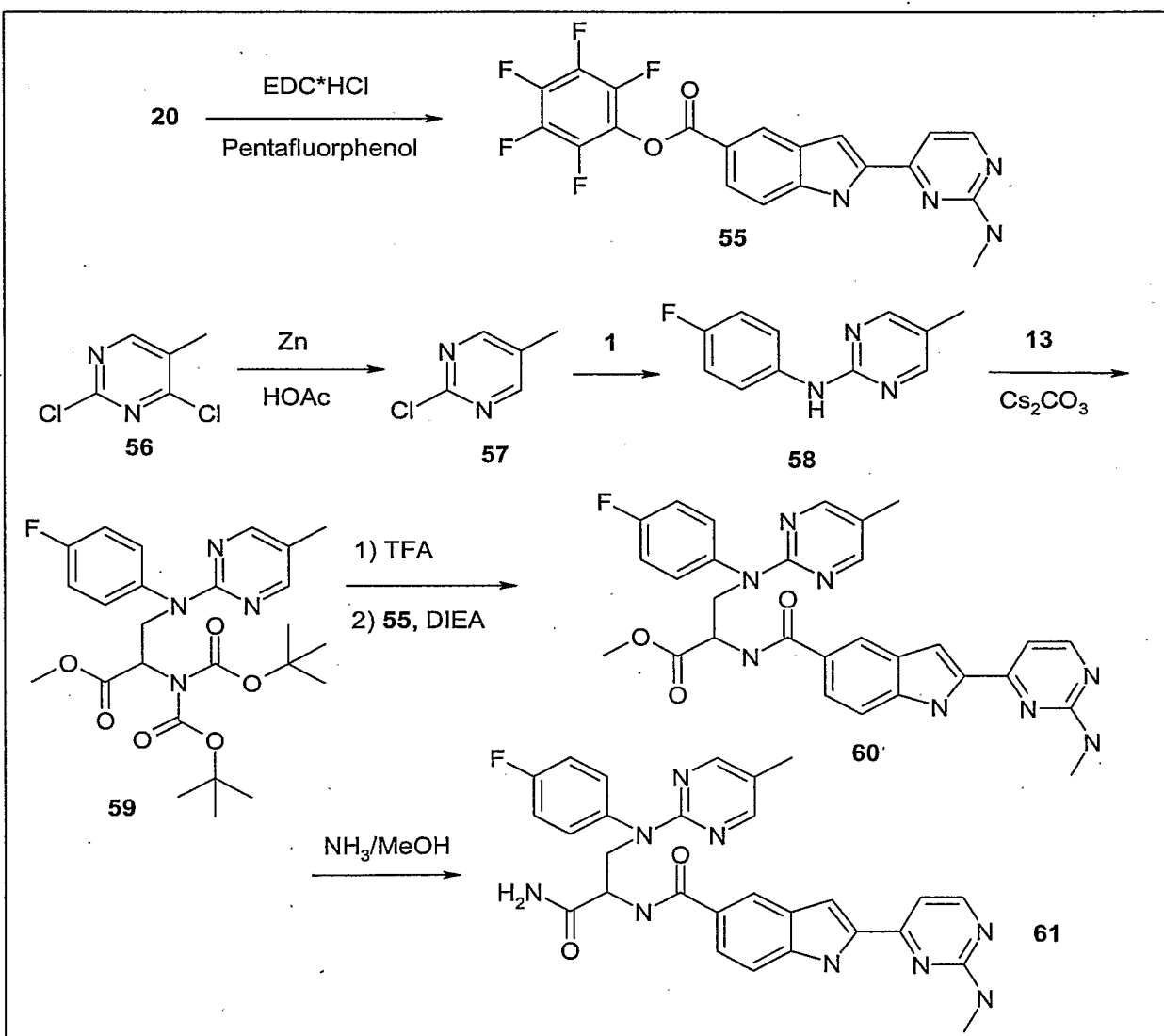
trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-propionsäure (**54**)

Aus 97 mg (0.164 mmol) des Esters **53** wurden analog der Durchführung wie unter D.10.1.) beschrieben, 38 mg (40 %) der Säure **54** erhalten.

Summenformel $C_{28}H_{23}F_3N_8O_3$; M.W. = 576.54; MS (M+H) 577.7.

¹H NMR (DMSO-*d*₆) 2.95 (s, 3 H), 4.27-4.34 (m, 1 H), 4.54-4.63 (m, 1 H), 4.83-4.92 (m, 1 H), 6.90 (bs, 1 H), 7.15 (d, 2 H), 7.19-7.23 (m, 1 H), 7.27-7.36 (m, 5 H), 7.45-7.55 (m, 2 H), 7.96 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.41 (bs, 1 H), 8.66 (d, 1 H), 11.70 (s, 1 H).

D.12.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-10 phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-ethyl}-amide (**61**)



D.12.1.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid pentafluorophenyl ester (55)

6.38 g (23.78 mmol) Säure **20** wurden in 100 ml THF suspendiert. Dazu gab man 5.25 g (28.54 mmol) Pentafluorphenol und 5.47 g (28.54 mmol) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-
5 carbodiimid Hydrochlorid (EDC*HCl). Man ließ 15 h bei RT rühren, entfernte das Lösungsmittel i. V. und verteilte den Rückstand zwischen 300 ml ges. NaHCO₃-Lösung und 300 ml Essigester. Die Feststoffe wurden über Kieselgur abfiltriert und der Rückstand 2 mal mit je 100 ml Essigester gewaschen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase 2 mal mit je 100 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 200 ml ges. NaCl-Lösung
10 gewaschen und dann mit MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen der Lösungsmittel i. V. wurde der Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 1:1 chromatographiert. Man erhielt 4.7 g (46 %) des Pentafluorphenylesters **55**. Summenformel C₂₀H₁₁F₅N₄O₂; M.W. = 434.33; MS (M+H) 435.4.

15 D.12.2.) 2-Chloro-5-methyl-pyrimidine (57)

10.0 g (61.35 mmol) 2,4-Dichlor-5-methylpyrimidin (**56**) wurden in 50 ml THF gelöst. Man gab 12.93 g (184 mmol) Zink hinzu und erhitze zum Rückfluss. Dann wurde langsam eine Lösung von 3.51 ml (61.35 mmol) Essigsäure in 10 ml THF zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe wurde noch 1 h zum Rückfluss erhitzt. Man tropfte weitere 1.5 ml Essigsäure in 5 ml THF zu
20 und erhitze 1 h zum Rückfluss. Man ließ dann auf RT abkühlen, filtrierte über Kieselgur und wusch 2 mal mit je 20 ml THF nach. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert. Man erhielt 4.7 g (60 %) des Chlorpyrimidins **57**. Summenformel C₅H₅ClN₂; M.W. = 128.56; MS (M+H) 129.2.

25 D.12.3.) (4-Fluoro-phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amine (58)

Aus 2.5 g (19.45 mmol) 2-Chlor-5-methylpyrimidin (**57**) und 2.7 g (24.31 mmol) 4-Fluoranilin (**1**) wurden unter analoger Durchführung wie unter A.1.) beschrieben 1.8 g (45 %) Anilin **58** erhalten. Summenformel C₁₁H₁₀FN₃; M.W. = 203.22; MS (M+H) 204.2.

30 D.12.4.) (3-(N-4-Fluor-phenyl-N-5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino)-2-di-tert.-butyloxycarbonyl-amino-propionsäure methylester (59)

Aus 2.67 g (8.86 mmol) Acrylat **10**, 1.8 g (8.86 mmol) Anilin **58** und 8.66 g (26.58 mmol) Cäsiumcarbonat wurden analog der Durchführung wie unter D.3.1.) beschrieben, 2.88 g (64

%)des Esters **59** erhalten.

Summenformel $C_{25}H_{33}FN_4O_6$; M.W. = 504.56; MS (M+H) 505.6.

D.12.5.) 3-[(4-Fluoro-phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (**60**)

500 mg (0.991 mmol) des Esters **59** wurden in 10 ml Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man gab 5 ml TFA hinzu, ließ auf RT kommen und 1 h nachrühren. Die Lösungsmittel wurden i. V. entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und 430 mg (0.991 mmol) **55** sowie 1.38 ml (7.93 mmol) DIEA zugegeben. Man ließ 15 h bei RT rühren, entfernte die Lösungsmittel i. V. und chromatographierte den Rückstand an Kieselgel mit Heptan/Essigester 1:3. Man erhielt 423 mg (77 %) **60**. Summenformel $C_{29}H_{27}FN_8O_3$; M.W. = 554.59; MS (M+H) 555.2.

D.12.6.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-ethyl}-amide (**61**)

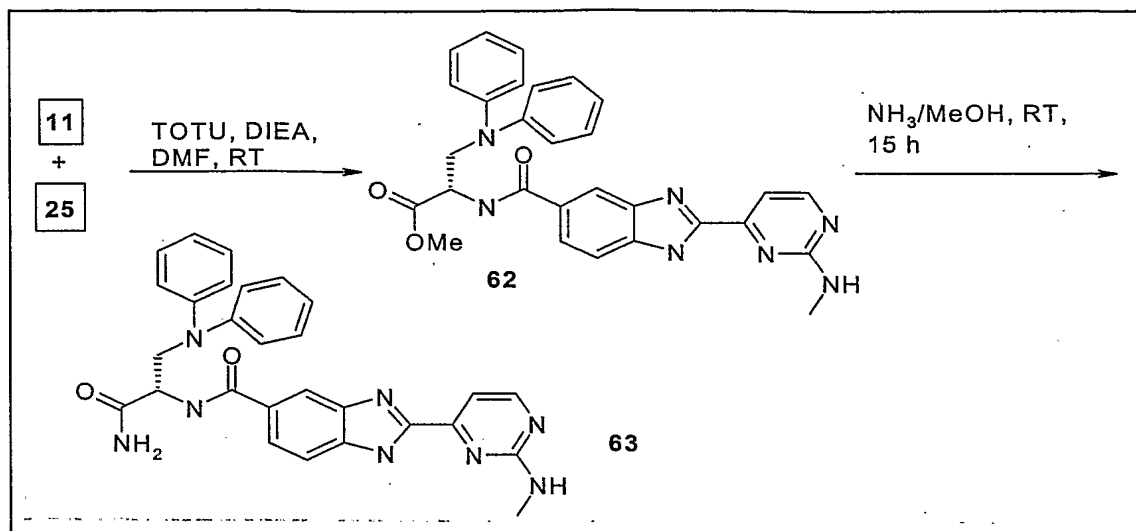
Aus 260 mg (0.469 mmol) Ester **60** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 250 mg (99 %) Amid **61** erhalten.

Summenformel $C_{28}H_{26}FN_9O_2$; M.W. = 539.58; MS (M+H) 540.2.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.11 (s, 3 H), 2.95 (s, 3 H), 4.21 (dd, 1 H), 4.48 (dd, 1 H), 4.75-4.80 (m, 1 H), 7.01 (bs, 1 H), 7.10-7.16 (m, 4 H), 7.22-7.30 (m, 3 H), 7.43 (s, 1 H), 7.47-7.53 (m, 2 H), 7.91 (s, 1 H), 8.26 (s, 2 H), 8.29-8.34 (m, 2 H), 11.70 (s, 1 H).

F.) Benzimidazol Endprodukte

F.1.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-carbonsäure-((S)-1-carbamoyl-2-di-phenylamino-ethyl)-amid (**63**)



F.1.1.) 3-Diphenylamino-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-carbonyl]-(S)-amino]-propionsäure-methyl-ester(62)

2.6 g (9.6 mmol) 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-carbonsäure (**25**) wurden in 300 ml DMF gelöst und nacheinander mit 3.17 g (9.6 mmol) TOTU und 1.6 ml (11.6 mmol) Ethyldiisopropylamin versetzt. Man rührte 20 min bei 5°C und gab zu der Lösung 2.6 g (9.6 mmol) (S)-2-Amino-3-diphenylamino-propionsäure-methyl-ester (**11**) hinzu. Nach 16 h Rühren engte man unter vermindertem Druck ein, anschließend wurde der Methylester **62** durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (DCM:MeOH= 9:1) isoliert. Ausbeute: 1.61 g (32%)

10 Summenformel $C_{29}H_{27}N_7O_3$; M.W. = 521.58; MS (M+H) 522.3.

1H NMR (DMSO- d_6) 2.95 (s(b), 3H), 3.60 (s, 3H), 4.19 – 4.40 (m, 2H), 4.90 (q, 1H), 6.90 – 7.10 (m, 6H), 7.25 – 7.35 (m, 6H), 7.40 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.60 – 7.80 (d(b) 1H), 8.05 – 8.25 (d(b), 1H), 8.45 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 8.90 (s(b), 1H), 11.85 (s(b), 1H).

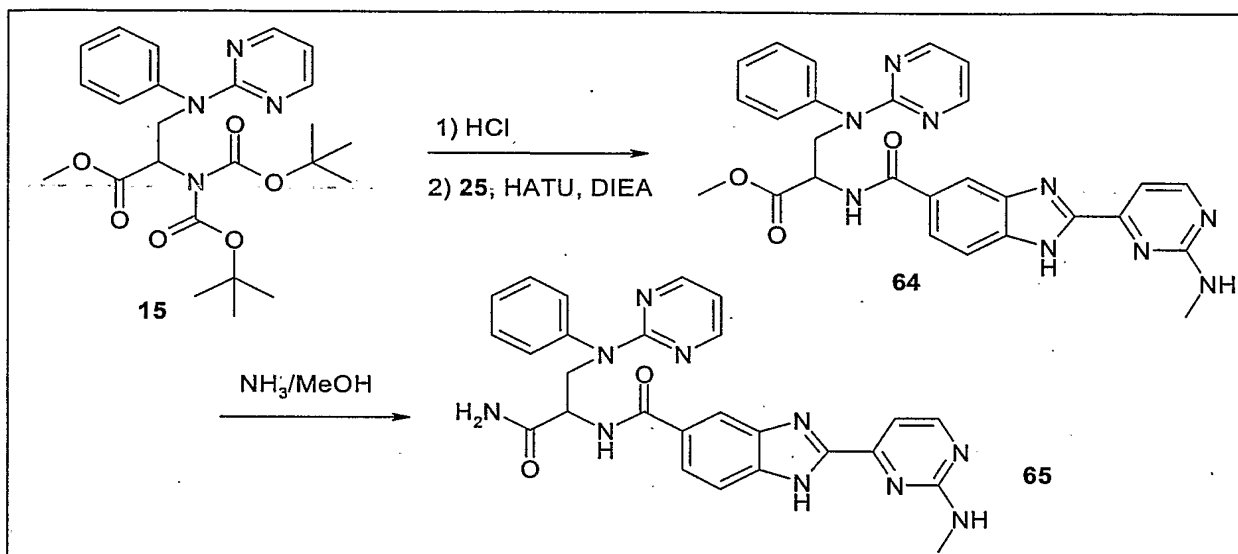
15 F.1.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-carbonsäure ((S)-1-carbamoyl-2-diphenylamino-ethyl)-amid (63)

50 ml Methanol (absolut) wurden bei 0°C mit Ammoniak gesättigt. Dazu wurde 0.5 g (0.959 mmol) 3-Diphenylamin-2-[[2-(2-methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-carbonyl]-(S)-amin]-propionsäure-methyl-ester (**62**) gegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach

20 Evaporation des Lösungsmittels und überschüssigen Ammoniaks wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (DCM:MeOH= 19:1) das Amid **63** isoliert. Ausbeute: 0.43 g (89%)
Summenformel $C_{29}H_{28}N_8O_2$; M.W. = 506.57; MS (M+H) 507.2.

¹H NMR (DMSO-d₆) 2.95 (s(b), 3H), 4.02 – 4.35 (m, 2H), 4.85 (q, 1H), 6.80 – 7.10 (m, 6H), 7.15 – 7.25 (m, 5H), 7.40 (d, J = 4.5 Hz, 1H), 7.58 (s(b), 1H), 7.68 (s(b), 1H), 8.06 – 8.19 (d(b), 1H), 8.40 – 8.58 (m, 2H), 13.10 (s, 1H).

5 F.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (65)



F.

2.1.) 3-[(phenyl)-pyridimidin-2-yl-amino]-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (64)

10 Aus 657mg **15** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.1.) beschrieben, 210 mg (29 %) des Methylesters **64** erhalten. Summenformel C₂₇H₂₅N₉O₃; M.W. = 523.56; MS (M+H) 524.2.

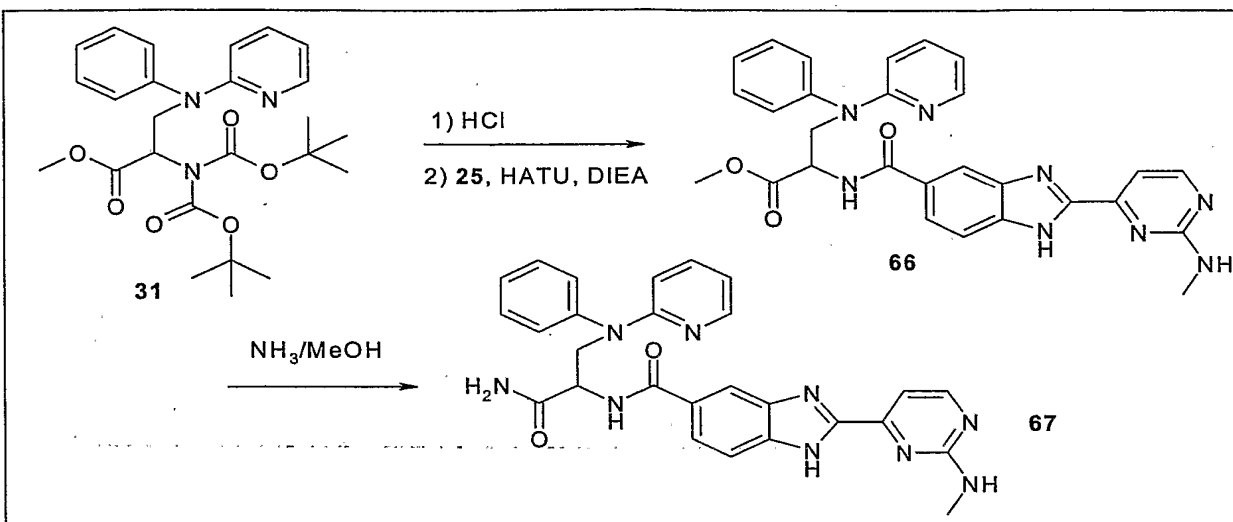
F.2.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidin-2-yl-amino]-ethyl}-amide (65)

15 Aus 200 mg **64** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.2.) beschrieben, 110 mg (65 %) des Amids **65** erhalten. Summenformel C₂₆H₂₄FN₁₀O₂; M.W. = 508.55; MS (M+H) 509.3.

¹H NMR (DMSO-d₆) 3.0 (s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1 H), 4.41-4.55 (m, 2 H), 4.80 – 4.90 (m, 1 H), 6.75 (m, 1 H), 7.10-7.50 (m, 10 H), 7.65 (q, 2 H), 8.10 (s, 1 H), -8.45 (d, 2 H), 8.50 (d, 1 H), 8.58 (d, 20 1 H), 12.95 (s(b), 1 H).

F.3.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(-

phenyl)-pyridyl-2-yl-amino]-ethyl}-amide (67)



F.

3.1.) 3-[(Phenyl)-pyridyl-2-yl-amino]-2-[[2-(2-methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonyl]-amino]-propionic acid methyl ester (**66**)

5 Aus 3.44 g **31** wurden unter analoger Durchführung wie unter D.2.1.) beschrieben, 0.85 g (22 %) des Methylesters **66** erhalten.

Summenformel C₂₈H₂₆N₈O₃; M.W. = 522.57; MS (M+H) 523.3.

F.3.2.) 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carboxylic acid {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridyl-2-yl-amino]-ethyl}-amide (**67**)

10 Aus 200 mg **66** wurden unter analoger Durchführung, wie unter D.2.2.) beschrieben, 160 mg (98 %) des Amids **67** erhalten.

Summenformel C₂₇H₂₅N₉O₂; M.W. = 507.56; MS (M+HCOO⁻) 552.3.

¹H NMR (DMSO-d₆) 3.0 (s(b), 3H), 4.20-4.32 (m, 1 H), 4.41-4.55 (m, 2 H), 4.70 – 4.80 (m, 1 H),

6.63 (m, 1 H), 6.85 (m, 1H), 7.20-7.75 (m, 14 H), 8.10 (s, 1 H), -8.20 (d, 2 H), 8.50 (d, 1 H), 8.88 (d,

15 1 H).

Pharmakologische Beispiele

IκB-Kinase ELISA:

20 Die Aktivität der IκB-Kinase wurde mit einem ELISA, bestehend aus einem biotiniliertem Substratpeptid, welches die Aminosäuresequenz im Protein IκB von Serine 32 bis 36 enthält, und einem spezifischen poly- oder monoklonalen Antikörper (z.B. von New England Biolabs, Beverly, MA, USA, Kat.: 9240), der nur an die phosphorylierte Form des Peptids IκB bindet, bestimmt. Dieser Komplex wurde an einer antikörperbindenden Platte (Protein A beschichtet)

immobilisiert und mit einem Konjugat aus einem biotinbindendem Protein und HRP (z.B. Streptavidin-HRP) detektiert. Die Aktivität wurde an Hand einer Standardkurve mit Substratphosphopeptid quantifiziert.

5 Durchführung:

Zur Gewinnung des Kinasekomplexes wurden 10 ml HeLa S3-Zelleextrakt S100 mit 40 ml 50mM HEPES, pH 7,5, verdünnt, auf 40% Ammoniumsulfat gebracht und auf Eis 30 Minuten inkubiert. Das präzipitierte Pellet wurde in 5 ml SEC Puffer (50 mm HEPES, pH 7,5, 1 mm DTT, 0,5 mm EDTA, 10 mm 2-Glyzerophosphat) gelöst, bei 20,000 x g für 15 Minuten zentrifugiert und durch einen 0,22 µm Filter filtriert. Die Probe wurde auf eine 320 ml Superose-6 FPLC Säule (Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Schweden) aufgetragen, die mit SEC Puffer äquilibriert war und mit einer Flussrate von 2 ml/min bei 4 °C betrieben wurde. Die Fraktionen, die bei der Laufzeit des 670 kDa Molekulargewichtstandards lagen, wurden für die Aktivierung vereinigt. Die Aktivierung wurde durch eine 45-minütige Inkubation mit 100 nM MEKK1Δ, 250 µM MgATP, 10 mm MgCl₂, 5 mm Dithiothreitol (DTT), 10 mm 2-Glyzerophosphat, 2,5 µM Microcystin-LR bei 37 °C erreicht. Das aktivierte Enzym wurde bei -80 °C gelagert.

Die in DMSO gelösten Testsubstanzen (2 µl) wurden 30 Minuten bei 25°C mit 43 µl aktiviertem Enzym (1:25 verdünnt in Reaktionspuffer 50 mm HEPES, pH 7,5, 10 mm MgCl₂, 5 mm DTT, 10 mm β-Glycerophosphat, 2,5 µM Microcystin-LR) vorinkubiert. Dann wurden 5 µl Substratpeptid (Biotin-(CH₂)₆-DRHDSGLDSMKD-CONH₂) (200 µM) dazugegeben, eine Stunde inkubiert und mit 150 µl 50 mm HEPES pH 7,5, 0.1% BSA, 50 mm EDTA, Antikörper [1:200] abgestoppt. 100 µl des abgestoppten Reaktionsgemisches bzw. einer Standardphosphopeptidverdünnungsreihe (Biotin-(CH₂)₆-DRHDS[PO₃]GLDSMKD-CONH₂) wurden dann in eine Protein-A Platte (Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA) überführt und 2 Stunden unter Schütteln inkubiert. Nach 3 Waschschritten mit PBS, wurden 100 µl 0,5 µg/ml Streptavidin-HRP (horseradish peroxidase) (verdünnt in 50 mm HEPES/ 0,1% BSA) für 30 Minuten hinzugegeben. Nach 5 Waschschritten mit PBS, wurden 100 µl TMB-Substrat (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD, USA) hinzugegeben und die Farbentwicklung durch Zugabe von 100 µl 0,18 M Schwefelsäure abgestoppt. Die Absorption wurde bei 450 nm gemessen. Die Standardkurve wurde durch lineare Regression entsprechend einer 4-Parameter Dosis-Wirkungsbeziehung erzeugt. An

Hand dieser Standardkurve wurde die Enzymaktivität bzw. deren Inhibition durch die Testsubstanzen quantifiziert.

Die IC₅₀ für 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamin-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid betrug 0,050 µM.

Blutplasmaspiegel von 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamin-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid

- 10 Die Verbindung 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamin-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid, im folgenden Verbindung 28 genannt, wurde männlichen C57/BL6-Mäusen verabreicht. Dazu wurden jeweils etwa 25 mg der Verbindung 28 pro kg Körpergewicht der Mäuse nassgemahlen in 0,5 % Hydroxyethylcellulose (HEC) als Suspension oral (über Schlundsonde) gegeben. Das Ziehen der Blutproben erfolgte
- 15 nach 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6 und 8 Stunden (zu jedem der genannten Zeitpunkte wurde Tötungsblut von jeweils 2 Tieren entnommen). Die Blutproben wurden in Heparin-Plasma umgewandelt. Die Plasmaproben wurden bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

Analytik:

Die Plasmaproben wurden aufgetaut. Anschließend wurden die für die Analytik störenden

- 20 Plasmaproteine mittels Acetonitril ausgefällt.

Aufarbeitung: 50 µl Plasma + 20 µl interner Standard (5µg/ml) + 50 µl Puffer (2 mMol Ammoniumformiatlösung, pH 2,6/Acetonitril, 40:60, v/v) wurden etwa 10 sec auf einem Whirlmixer gemischt. Anschließend wurde 150 µl Acetonitril zugefügt und erneut etwa 10 sec gemischt. Die Proben wurden anschließend zentrifugiert (Hettich, EBA 12, etwa 12000

- 25 Umdrehungen pro Minute). Der Überstand (etwa 200 µl) wurde in Glasgefäße transferiert. 70 µl des Überstandes wurden injiziert.

Aus dem jeweiligen Überstand wurde der Plasmaspiegelgehalt der Verbindung 13 mittels LC-MS/MS nach der folgenden Methode bestimmt:

HPLC-System: Agilent 1100

- 30 Software: Analyst

Säule: 125x4mm Nucleosil 120 5 C18 (Machery&Nagel)

Säulenlänge: 125 mm

Detektion: LC-MS/MS

MS-Gerät: PE – Sciex API 365 (Triple Quadrupole Massespektrometer)

Software: MacQuan Software (PE-Sciex)

Detektionsart: MS/MS (MRM)

Flußrate: 0,5 mL/min

5 Injektionsvolumen: 70 µl

Interner Standard: SK-7 in Acetonitril

Mobile Phase: Acetonitril/2 mMol Ammoniumformiatlösung, pH 2,6 (70:30, v/v)

Retentionszeiten (Rt):

Interner Standard: 4,4 min

10 Verbindung 28: 3,9 min

Die untere Nachweisgrenze der Methode liegt bei 0,01 µg/mL.

Ergebnisse:

Der Plasmaspiegel der Verbindung 28 betrug maximal 4,3 µg/mL. Die Exposition gemessen als

15 AUC = Area under the curve betrug 5,4 µg/mLxh..

Proteintyrosinkinase

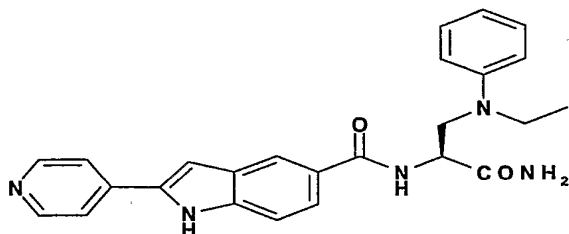
Als Beispiele für die Spezifität der gefundenen IκB-Kinase-Inhibitoren wurde der IC₅₀-Wert bei der Kinase-Enzym Proteintyrosinkinase bestimmt.

20 Die Proteintyrosinkinase Aktivität wurde mit dem entsprechenden Testkit von Upstate Biotechnologie gemäß der Vorschrift des Hersteller bei einer ATP-Konzentration von 50 µM bestimmt. Abweichend wurden statt Phosphocellulosefilter Multi-Screen-Platten (Millipore; Phosphocellulose MS-PH, Kat. MAPHNOB10, oder Durapore PVDF, Kat. MADVNOB 50) mit dem entsprechenden Absaugsystem verwendet. Als Testkit-Substrat wurde Poly (Glu, Tyr 4:1) (Sigma
25 Kat. P0275) Testkonzentration 1 mg/ml, eingesetzt. Die Platten wurden anschließend in einem Wallac MicroBeta Szintillationszähler vermessen. Es wurde jeweils 100 µM der Testsubstanz verwendet.

Die Testsubstanz wurde in Doppelbestimmung getestet. Die IC₅₀-Berechnungen wurden mit dem Softwarepaket GraFit 3.0 durchgeführt.

30 Die IC₅₀ für 2-(2-Methylamin-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamin-1-(5-oxo- 4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid (Verbindung 28) betrug im Proteintyrosinkinaseassay 82,5 µM. Vergleichsversuch:

Die Verbindung



wurde wie in WO 01/30774 beschrieben hergestellt und wird im folgenden als Vergleichsverbindung bezeichnet. Die Vergleichsverbindung wurde männlichen NMRI-Mäusen 5 verabreicht. Dazu wurden jeweils etwa 50 mg der Vergleichsverbindung pro kg Körpergewicht der Mäuse in 0,5 % HEC als Suspension oral (über Schlundsonde) gegeben. Das Ziehen der Blutproben erfolgte nach 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6 und 8 Stunden (zu jedem der genannten Zeitpunkte wurde Tötungsblut von jeweils 2 Tieren entnommen). Die Blutproben wurden in Heparin-Plasma umgewandelt. Die Plasmaproben wurden bis zur Analyse bei -20°C gelagert.

10 Analytik: Die Analytik wurde mit HPLC/UV durchgeführt.

Aufarbeitung: 50 μl Plasma + 20 μl interner Standard (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + 50 μl Puffer (1% Ameisensäure/Acetonitril, 40:60, v/v) wurden etwa 10 sec auf einem Whirlmixer gemischt. Anschließend wurde 150 μl Acetonitril zugefügt und erneut etwa 10 sec gemischt. Die Proben 15 wurden anschließend zentrifugiert (Hettich, EBA 12, etwa 12000 Umdrehungen pro min). Der Überstand (etwa 200 μl) wurde in Glasgefäße transferiert. 100 μl des Überstandes wurden injiziert.

Aus dem jeweiligen Überstand wurde der Plasmaspiegelgehalt der Vergleichsverbindung 20 mittels HPLC/UV nach der folgenden Methode bestimmt:

HPLC-System: Gynkoteck P580 HPG-Pumpe + Gilson Abimed XL-231 Autosampler
Software: Mass-chrom
Säule: 125x4mm Protosil 120 3 ODS AQ 3 (Fa. Bischoff)

25 Säulenlänge: 125 mm
Detektion: LC-MS/MS
MS-Gerät: PE – Sciex API 365 (Triple Quadrupole Massespektrometer)
Software: MacQuan Software (PE-Sciex)
Detektionsart: MS/MS (MRM)

Flußrate: 0,5 mL/min

Injektionsvolumen: 100 µl

Interner Standard: SK-7 (Aventis-Verbindung) in Acetonitril

Mobile Phase: Acetonitril/2 mMol Ammoniumformiatlösung, pH 2,6 (70:30, v/v)

5 Retentionszeiten (Rt):

Interner Standard: 4 min

Vergleichsverbindung: 1,5 min

Die untere Nachweisgrenze mit 0,01 µg/mL war identisch zu der mittels LC-MS/MS im Beispiel
10 mit der Verbindung 28.

Ergebnisse: Der Plasmaspiegel der Vergleichsverbindung betrug maximal 1,5 µg/mL. Die Exposition gemessen als AUC = Area under the curve betrug 1,7 µg/mLxh.

Im Vergleich zum Beispiel mit der Verbindung 28 war der maximale Blutplasmaspiegel etwa
15 60 % niedriger im Vergleichsversuch, obwohl die Vergleichsverbindung mit 50 mg/kg doppelt so hoch dosiert wurde wie bei der Verbindung 28. Das gleiche Ergebnis zeigen auch die ermittelten AUC-Werte für die Vergleichsverbindung.

Der IC₅₀ für die Vergleichsverbindung betrug im oben beschriebenen
20 Proteintyrosinkinaseassay 46,35 µM. Daher ist der IC₅₀ deutlich besser als für die Verbindung 28.

Noch deutlicher wird die Verbesserung der Spezifität in Bezug auf die IκB-Kinase, wenn man das Verhältnis der IC₅₀ Werte von Proteintyrosinkinase zu IκB-Kinase vergleicht. Dieser Quotient beträgt für die Verbindung 28 1650 (82,5/0,05) und für die Vergleichsverbindung
25 46,35 (46,35/1,0 ; gemäß den Daten aus WO 01/30774).

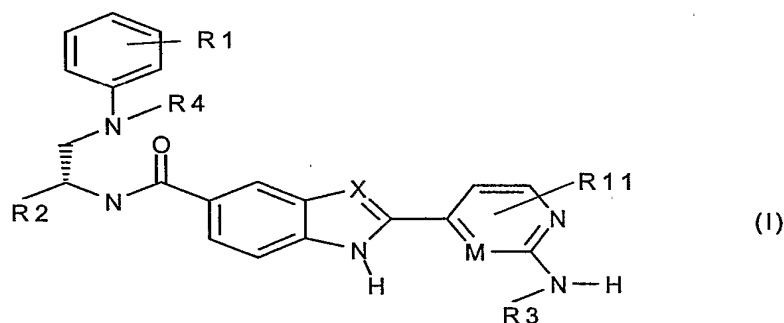
Analog wurde die Spezifität-Verhältnisse bzw. Plasmaspiegel und Exposition der weiteren Beispiele bestimmt

Beispiel Nr.	Molekular Formel Neutralverbindung	Molekular Gewicht	IKK IC50 50µM	Spezifitäts- Verhältnis
28	C30 H26 N8 O3	546,59	0,05	1650
30	C28H25FN8O2	524,56	0,05	> 200
33	C29H25N9O3	547,58	0,012	> 833
35	C27H23FN8O2	510,54	0,01	> 1000
36	C29H25FN10O	548,59	0,005	> 2000
42	C26H24N8O2S	512,60	0,009	> 1110
43	C29H28N8O3	536,60	0,0008	> 12500
45	C28 H25 N7 O2	491,55	0,015	> 665
47	C27H25N9O2	507,56	0,006	> 1665
49	C31 H31 N7 O3	549,63	0,035	> 285
54	C28H23F3N8O3	576,54	0,003	> 3330
61	C28H26FN9O2	539,58	0,006	> 1650
63	C28 H26 N8 O2	506,57	0,003	> 1000
65	C26H24N10O2	508,55	0,004	> 2500
67	C27H25N9O2	507,56	0,002	> 5000

> bedeutet besser als

Patentansprüche:

1. Verbindung der Formel I



5 und/oder eine stereoisomere Form der Verbindung der Formel I und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei X und M gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für N-Atom oder CH stehen,

R1 und R11 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

- 10 1. Wasserstoffatom,
2. F, Cl, J oder Br,
3. -(C₁-C₄)-Alkyl,
4. -CN,
5. -CF₃,
- 15 6. -OR⁵, worin R⁵ für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl steht,
7. -N(R⁵)-R⁶, worin R⁵ und R⁶ unabhängig voneinander für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl stehen,
8. -C(O)-R⁵, worin R⁵ für Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl steht, oder
9. -S(O)_x-R⁵, worin x die ganze Zahl Null, 1 oder 2 bedeutet und R⁵
- 20 Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl bedeutet, stehen,

R2 für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe 3-Hydroxypyrro-2,4-dion, Imidazol, Imidazolidin, Imidazolin, Indazol, Isothiazol, Isothiazolidin, Isoxazol, 2-Isoxazolidin, Isoxazolidin, Isoxazolon, Morpholin, Oxazol, 1,3,4-Oxadiazol, Oxadiazolidindion, Oxadiazolon, 1,2,3,5-Oxathiadiazol-2-oxid, 5-Oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol, 5-Oxo-1,2,4-thiadiazol, Piperazin, Pyrazin, Pyrazol,

Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridazin, Pyrimidin, Tetrazol, Thiadiazol, Thiazol, Thiomorpholin, Triazol oder Triazolon, steht, und der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch

- 5 1.1 $-C(O)-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
- 1.2 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 1.3 $-O-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
- 1.4 $-N(R^5)-R^6$, worin R^5 und R^6 unabhängig voneinander für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl stehen,
- 10 1.5 Halogen oder
- 1.6 Keto-Rest,
2. $-C(O)-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
3. $-C(O)-OR^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht, oder
4. $-C(O)-N(R^7)-R^8$, worin R^7 und R^8 unabhängig voneinander für
- 15 Wasserstoff-atom, $-(C_1-C_4)$ -Alkyl-OH, $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl stehen,
- R3 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
- R4 für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Isothiazol, Tetrazol, 1,2,3,5-Oxathiadiazol-2-
- 20 Oxide, Triazolone, Oxadiazolon, Isoxazolon, Oxadiazolidindion, Triazol, 3-Hydroxypyrro-2,4-dione, 5-Oxo-1,2,4-Thiadiazole, Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Indol, Isoindol, Indazol, Phthalazin, Chinolin, Isochinolin, Chinoxalin, Chinazolin, Cinnolin, β -Carbolin und benz-anellierte, cyclopenta-, oder cyclohexa- Derivate dieser Heteroarylreste,
- 25 wobei der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch $-(C_1-C_5)$ -Alkyl, $-(C_1-C_5)$ -Alkoxy, Halogen, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy- $-(C_1-C_4)$ -alkyl, Methylendioxy, Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkoxycarbonyl, oder

2. einen Arylrest aus der Gruppe Phenyl, Naphthyl, 1-Naphthyl, 2-Naphthyl, Biphenyl, 2-Biphenyl, 3-Biphenyl und 4-Biphenyl, Anthryl oder Fluorenyl steht, und
 der Arylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch $-(C_1-C_5)$ -Alkyl, $-(C_1-C_5)$ -Alkoxy, Halogen, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy- (C_1-C_4) -alkyl, Methylendioxy, Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder $-(C_1-C_4)$ -Alkoxycarbonyl.

10

2. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1, wobei X und M gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für N-Atom oder CH stehen,

R1 und R11 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

15

1. Wasserstoffatom,
2. F, Cl, J oder Br,
3. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
4. -CN,
5. $-CF_3$,

20

6. $-OR^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht,
7. $-N(R^5)-R^6$, worin R^5 und R^6 unabhängig voneinander für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl stehen,
8. $-C(O)-R^5$, worin R^5 für Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht, oder
9. $-S(O)_x-R^5$, worin x die ganze Zahl Null, 1 oder 2 bedeutet und R^5 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet, stehen,

25

R2 für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe Imidazol, Isothiazol, Isoxazol, 2-Isoxazolidin, Isoxazolidin, Isoxazolon, 1,3,4-Oxadiazol, Oxadiazolidindion,

1,2,3,5- Oxadiazolon, Oxazol, 5-Oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol, Tetrazol, Thiadiazol, Thiazol, Triazol oder Triazolon steht, und

der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch

5

1.1 Keto-Rest,

1.2 F, Cl, J oder Br oder

1.3 -(C₁-C₂)-Alkyl, oder

2. -C(O)-N(R⁷)-R⁸, worin R⁷ und R⁸ unabhängig voneinander für Wasserstoffatom, -(C₁-C₄)-Alkyl-OH, -O-(C₁-C₄)-Alkyl oder -(C₁-C₄)-Alkyl stehen, steht

10

R³ für Wasserstoffatom, Methyl oder Ethyl steht,

R⁴ für 1. einen Heteroarylrest aus der Gruppe der ungesättigten, teilweise gesättigten oder vollständig gesättigte Ringe steht, die sich von Pyridin, Pyrazin, Pyrimidin, Pyridazin, Pyrrol, Furan, Thiophen, Imidazol, Pyrazol, Oxazol, Isoxazol, Thiazol, Triazol oder Isothiazol ableiten,

15

wobei der Heteroarylrest unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch -(C₁-C₄)-Alkyl, -(C₁-C₄)-Alkoxy, F, Cl, J, Br, Nitro, Amino, Trifluormethyl, Hydroxyl, Hydroxy-(C₁-C₄)-alkyl, Methylendioxy, Ethylendioxy, Formyl, Acetyl, Cyano, Hydroxycarbonyl, Aminocarbonyl oder -(C₁-C₄)-Alkoxycarbonyl, oder

20

2. Phenyl steht, und Phenyl unsubstituiert ist oder ein-, zwei- oder dreifach unabhängig voneinander substituiert ist durch F, Cl, J, Br, CF₃, -OH, -(C₁-C₄)-Alkyl oder -(C₁-C₄)-Alkoxy.

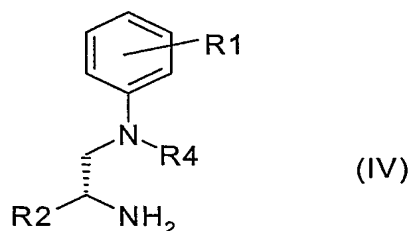
25

3. Verbindung der Formel I gemäß der Ansprüche 1 oder 2, wobei die Verbindung der Formel I 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-2-diphenylamino-1-(5-oxo-4,5-dihydro-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-ethyl]-amid, 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluorophenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,

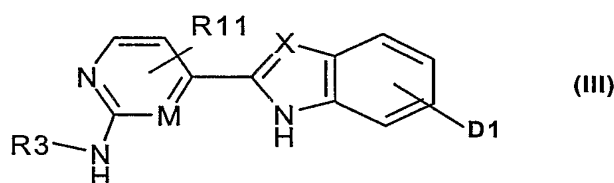
30

- 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [(S)-1-(5-oxo-4,5-dihydro-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,
 2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,
 5 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [2-[(4-fluoro-phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-1-(4H-[1,2,4]triazol-3-yl)-ethyl]-amid,
 (S)-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-carbamoyl-2-(phenyl-thiazol-2-yl-amino)-ethyl]-amid,
 (S)-2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-methoxycarbamoyl-2-(phenyl-pyridin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,
 10 2-(2-Amino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridin-2-yl-amino]-ethyl}-amid,
 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidyl-2-yl-amino]-ethyl}-amid,
 15 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure [1-(2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-2-(phenyl-pyrimidin-2-yl-amino)-ethyl]-amid,
 (S)-2-{[2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonyl]-amino}-3-[phenyl-(4-trifluoromethyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-propionsäure,
 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-indol-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(4-fluoro-phenyl)-(5-methyl-pyrimidin-2-yl)-amino]-ethyl}-amid,
 20 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-carbonsäure-((S)-1-carbamoyl-2-di phenylamino-ethyl)-amid,
 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyrimidyl-2-yl-amino]-ethyl}-amid oder
 25 2-(2-Methylamino-pyrimidin-4-yl)-1H-benzimidazole-5-carbonsäure {1-carbamoyl-2-[(phenyl)-pyridyl-2-yl-amino]-ethyl}-amid ist.

4. Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren
 30 der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass man
 a) eine Verbindung der Formel IV,



worin R1, R2 und R4 wie in Formel I definiert sind, mit einem Säurechlorid oder einem aktivierten Ester der Verbindung der Formel III,



wobei D1 –COOH bedeutet und R11, X, M und R3 wie in Formel I definiert sind, in Gegenwart einer Base oder gegebenenfalls eines wasserentziehenden Mittels in Lösung umgesetzt und in eine Verbindung der Formel I überführt,

- b) eine nach Verfahren a) hergestellte Verbindung der Formel I, die aufgrund ihrer chemischen Struktur in enantiomeren Formen auftritt, durch Salzbildung mit enantiomerenreinen Säuren oder Basen, Chromatographie an chiralen Stationärphasen oder Derivatisierung mittels chiraler enantiomerenreinen Verbindungen wie Aminosäuren, Trennung der somit erhaltenen Diastereomeren, und Abspaltung der chiralen Hilfsgruppen in die reinen Enantiomeren auftrennt, oder
- c) die nach den Verfahren a) oder b) hergestellte Verbindung der Formel I entweder in freier Form isoliert oder im Falle des Vorliegens von sauren oder basischen Gruppen in physiologisch verträgliche Salze umwandelt.

5. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt an mindestens einer Verbindung der Formel I und/oder eines physiologisch verträglichen Salzes der Verbindung der Formel I und/oder eine gegebenenfalls stereoisomere Form der Verbindung der Formel I, zusammen mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Trägerstoff, Zusatzstoff und/oder anderen Wirk- und Hilfsstoffen.

6. Verwendung der Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie all solcher Erkrankungen, an deren Verlauf eine verstärkte Aktivität von $\text{I}\kappa\text{B}$ -Kinase beteiligt ist.
- 5
7. Verwendung gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Erkrankungen chronische Erkrankungen des Bewegungsapparates wie entzündliche, immunologisch oder stoffwechselbedingte akute und chronische Arthritiden, Arthropathien, rheumatoide Arthritis, oder degenerative Gelenkerkrankungen wie Osteoarthrosen, Spondylosen, Diabetes Typ II, „inflammatory bowel disease“, Knorpelschwund nach Gelenktrauma oder längerer Gelenksruhigstellung nach Meniskus- oder Patellaverletzungen oder Bänderrissen oder Erkrankungen des Bindegewebes wie Kollagenosen und Periodontalerkrankungen, Myalgien und Störungen des Knochenstoffwechsels, oder Erkrankungen, die durch eine Überexpression von Tumor
- 10
- 15 Nekrose Faktor alpha ($\text{TNF}\alpha$) oder erhöhte Konzentration an $\text{TNF}\alpha$ bedingt sind wie Kachexie, Multiple Sklerose, Schädel-Hirn Trauma, Morbus Crohn und Darmgeschwüre, oder Erkrankungen wie Atherosklerose, Stenosen, Ulceration, Alzheimers Erkrankungen, Muskelabbau, Krebserkrankungen, Herzinfarkt, Gicht, Sepsis, septischer Schock, endotoxischer Schock, virale Infektionen wie Grippe, Hepatitis, HIV-Infektionen,
- 20
- AIDS, oder durch Adenoviren oder Herpesviren verursachte Erkrankungen, parasitische Infektionen wie Malaria oder Lepra, Pilz- oder Hefeinfektionen, Gehirnhautentzündungen, chronische entzündliche Lungenerkrankungen wie chronische Bronchitis oder Asthma, acute respiratory distress syndrome, akute Synovitis, Tuberkulose, Psoriasis, Diabetes, Behandlung von akuten oder chronischen Abstoßungsreaktionen des Organempfängers gegen das verpflanzte Organ, chronische
- 25
- Graft-versus-Host-Erkrankungen und entzündliche Gefäßerkrankungen sind.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/08629

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D401/14 C07D403/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 01 30774 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 3 May 2001 (2001-05-03) cited in the application claims; example 9	1-7
Y	WO 01 00610 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 4 January 2001 (2001-01-04) cited in the application claims; example 141	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 November 2003

Date of mailing of the international search report

15/01/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Menegaki, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP 03/08629

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0130774	A	03-05-2001	DE 19951360 A1
			03-05-2001
			AU 1272801 A
			08-05-2001
			BR 0015026 A
			16-07-2002
			CA 2389165 A1
			03-05-2001
			CN 1379772 T
			13-11-2002
			CZ 20021413 A3
			17-07-2002
			EE 200200217 A
			16-06-2003
			WO 0130774 A1
			03-05-2001
			EP 1261601 A1
			04-12-2002
			HU 0203228 A2
			28-02-2003
			JP 2003519101 T
			17-06-2003
			NO 20021808 A
			17-04-2002
			SK 5432002 A3
			06-11-2002
			TR 200201144 T2
			21-02-2003
			US 2003119820 A1
			26-06-2003
			ZA 200203204 A
			23-10-2002
WO 0100610	A	04-01-2001	DE 19928424 A1
			28-12-2000
			DE 10006297 A1
			16-08-2001
			AU 5404200 A
			31-01-2001
			BR 0012450 A
			02-04-2002
			CA 2377085 A1
			04-01-2001
			CN 1356995 T
			03-07-2002
			CZ 20014526 A3
			13-03-2002
			EE 200100619 A
			17-02-2003
			WO 0100610 A1
			04-01-2001
			EP 1194425 A1
			10-04-2002
			HU 0202028 A2
			28-10-2002
			JP 2003503400 T
			28-01-2003
			NO 20016154 A
			19-02-2002
			NZ 516348 A
			30-06-2003
			SK 18762001 A3
			04-06-2002
			US 6358978 B1
			19-03-2002
			ZA 200110127 A
			05-11-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/08629

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C07D401/14 C07D403/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 01 30774 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 3. Mai 2001 (2001-05-03) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche; Beispiel 9	1-7
Y	WO 01 00610 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 4. Januar 2001 (2001-01-04) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche; Beispiel 141	1-7

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. November 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

15/01/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Menegaki, F

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/08629

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0130774 A	03-05-2001	DE 19951360 A1	03-05-2001
		AU 1272801 A	08-05-2001
		BR 0015026 A	16-07-2002
		CA 2389165 A1	03-05-2001
		CN 1379772 T	13-11-2002
		CZ 20021413 A3	17-07-2002
		EE 200200217 A	16-06-2003
		WO 0130774 A1	03-05-2001
		EP 1261601 A1	04-12-2002
		HU 0203228 A2	28-02-2003
		JP 2003519101 T	17-06-2003
		NO 20021808 A	17-04-2002
		SK 5432002 A3	06-11-2002
		TR 200201144 T2	21-02-2003
		US 2003119820 A1	26-06-2003
		ZA 200203204 A	23-10-2002
WO 0100610 A	04-01-2001	DE 19928424 A1	28-12-2000
		DE 10006297 A1	16-08-2001
		AU 5404200 A	31-01-2001
		BR 0012450 A	02-04-2002
		CA 2377085 A1	04-01-2001
		CN 1356995 T	03-07-2002
		CZ 20014526 A3	13-03-2002
		EE 200100619 A	17-02-2003
		WO 0100610 A1	04-01-2001
		EP 1194425 A1	10-04-2002
		HU 0202028 A2	28-10-2002
		JP 2003503400 T	28-01-2003
		NO 20016154 A	19-02-2002
		NZ 516348 A	30-06-2003
		SK 18762001 A3	04-06-2002
		US 6358978 B1	19-03-2002
		ZA 200110127 A	05-11-2002